

EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

A.v.MURALT · L.RUZICKA · J.WEIGLE

Bern

Zürich

Genève

Redactor: P.-D. Dr. H. Mislin, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10

SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. III - Fasc. 7

15. VII. 1947

Fr. 2.—

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

- W. T. J. MORGAN: The Human AB0 Blood Group Substances 257
A. ZELLER: Über die optimale Zusammensetzung der Nahrung 267
ET. WOLFF: Essai d'interprétation des résultats obtenus récemment chez les Vertébrés sur l'intersexualité hormonale 272

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief reports

- K. HUBER und A. GAUGLER: Über optische Untersuchungen an Deckschichten auf Aluminium 277
A. VAN ITTERBEEK and L. DE GREVE: Measurements on the Electrical Resistivity of Thin Nickel Films 278
G. ANNER und K. MIESCHER: Über einheitliche Racemate des 1-Oxo-2-methyl-7-methoxy-octahydrophenanthren-2-carbonsäuremethylesters 279
K. WEBER und E. MATIJEVIĆ: Über photogalvanische Erscheinungen bei organischen Redoxsystemen 280
J. W. BREITENBACH und W. THURY: Der Typus der Polymerisation des flüssigen Vinylchlorids 281
R. BECHER und S. LEVA: Über die Adsorptionskraft der Pektine in organischen Lösungsmitteln 281
F. BOVET NITTI: Sur la nature de l'estérase contenue dans le venin de cobra 283
A. GÓTH, G. BIKICH, H. HARMATH: Failure of Increase of Bismuth-binding Substances after Fat and Protein Intake during Pregnancy 286
L. MASSART, G. PEETERS, J. DE LEY, R. VERCAUTEREN, and A. VAN HOUCKE: The mechanism of the Biochemical Activity of Acridines 288
L. MASSART, G. PEETERS, and A. VAN HOUCKE: Acridines and Streptomycine 289
A. BESSEMANS, P. DEROM et R. DEROM: Action *in vitro* de la pénicilline sur la virulence du Tréponème pâle 290
M. BEIN, R. SIGNER und W. H. SCHOPFER: Einfluß von Penicillin auf die Wurzelkultur (*Zea mays*). Nachweis von β -Indolylessigsäure (Heteroauxin) im Handelspenicillin 291
F. MULÉ: Sul meccanismo di azione della vaccino-terapia nella infezione tifoidea 292
C. HEYMANS et J. JACOB: Action du succinate de soude sur la respiration 294
S. MOESCHLIN: Sulfamidés et granulations de Heinz (Disputanda) 295

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

- Statistical Analysis in Biology. By K. Mather (Methuen & Co., Ltd., London, 2nd Edition, 1946) (Ref. Ch. Wunderly) 296
Le Bactériophage, sa nature et son emploi thérapeutique. Par J. Steinmann (Karger, Basel-New York 1946) (Ref. E. Suter) 296
Meson Theory of Nuclear Forces. By Wolfgang Pauli (Interscience Publishers, Inc., New York 1946) (Ref. M. Fierz) 296
Structural Inorganic Chemistry. By A. F. Wells (Oxford, Clarendon Press 1945) (Ref. W. Feitknecht) 297
Ouvrages reçus - Eingegangene Bücher - Libri pervenuti - Books received. Revues - Zeitschriften - Riviste - Journals 297

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

- Sir JOSEPH BARCROFT (1872-1947) - Verbreitung der Sonnenflecken-Relativzahlen durch Radio - Corrigendum 298/300

CHARBON- CILAG

Tabletten



SCHAFFHAUSEN

Neue Verkaufsform

Durchfälle aller Art, speziell Sommerdiarrhöe, alimentäre Intoxikationen, bazilläre Dysenterie und Flatulenz.

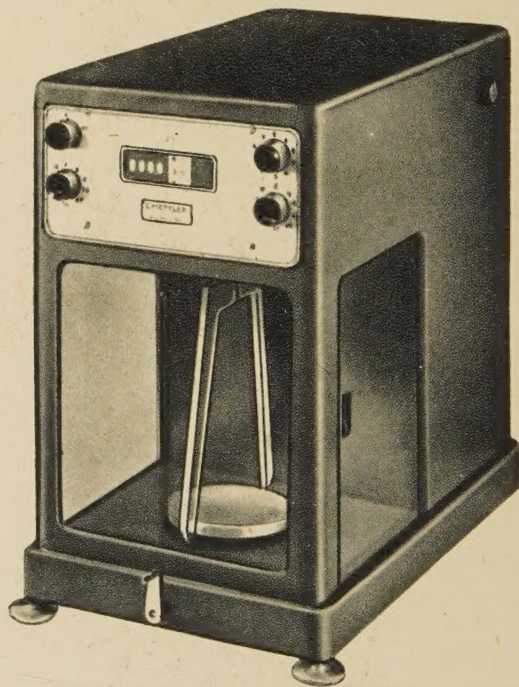
20, 50, 250 und 1000 Tabletten zu 0,7 g.
Daneben das aromatische Granulat.

STATISTISCHES JAHRBUCH DER SCHWEIZ 1945

54. Jahrgang. Herausgegeben vom Eidgenössischen Statistischen Amt in Bern. Text deutsch und französisch. Umfang 640 Seiten, mit zahlreichen Tabellen und Statistiken über das wirtschaftliche, soziale, politische und kulturelle Leben der Schweiz.

Dauerhaft in Leinen gebunden Fr. 10.50
(Plus Porto und Warenumsatzsteuer Fr. 1.-)

VERLAG BIRKHAUSER AG.
BASEL



Analysenwaagen (Schnellwaagen)

Maximalbelastung 200 g, optischer Bereich 100 mg
Ablesegenauigkeit je nach Type $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$ mg

E. METTLER Präzisionsapparate
KÜSNACHT-ZCH. Telefon (051) 91 16 50

The Human AB0 Blood Group Substances¹

By W. T. J. MORGAN², London

Nearly half a century has passed since LANDSTEINER and his pupils announced that human bloods can be divided into four serological types and thus clarified earlier observations in which iso-agglutinins, the naturally occurring antibodies which agglutinate erythrocytes within the same animal species, were attributed to pathological changes of the blood. LANDSTEINER cross-tested the sera and erythrocytes of individuals in his laboratory and found that in some instances intense agglutination of the corpuscles resulted whereas in others no agglutination occurred. He considered this phenomenon of iso-agglutination to be caused by the reaction of the agglutinable substances, A and B, contained in the erythrocytes, with their corresponding naturally occurring specific iso-agglutinins in the serum. According as to whether the erythrocytes contain A, B, A and B, or neither factor, bloods can be classified into four groups and on the basis of these observations LANDSTEINER established the classical AB0 blood group system and formulated the following important rule:— "A person's serum cannot contain antibody for antigens present in his own erythrocytes." In one respect the human specific A and B agglutinable factors differ from all other blood group substances in being the only ones for which the corresponding iso-agglutinins are found naturally and in considerable strength in the serum. Indeed, it is to avoid during blood transfusion an agglutinable substance in the erythrocyte surface being brought accidentally into contact with its specific iso-agglutinin in the circulation of a recipient that an understanding of the AB0 system is indispensable. On the basis of LANDSTEINER's results there follows a definite relationship between the different kinds of human blood; these are set out in Table I.

Although a technique of blood transfusion* has been evolved on the basis of LANDSTEINER's serological studies and is in daily use in modern medical practice³, it is only within the last few years that a more comprehensive understanding of the reactions involved in terms of chemistry and physics has been attained.

The isolation and characterization of the specific blood group agglutinable substances has been the subject of numerous investigations extending over many years and the results have, at one time or another, implicated proteins, lipoids, and carbohydrates as the agents responsible for the group specificity. It is now known, however, that the specific substances exist in the body in at least two forms. In the erythrocytes they are bound in some way to lipoidal or lipoprotein material and are not significantly soluble in water or saline but can be isolated by extraction of the corpuscles or stromata with dilute alcohol, whereas in the tissue fluids and secretions of the majority of persons the group substances are present in a water-soluble form¹. Those individuals who secrete their group substances in a water-soluble form in the tissue fluids and secretions are termed "secretores" whereas those who do not secrete the active factors or do so very weakly are called "non-secretores"². It has been established that the presence or absence of water soluble specific blood group substances in the secretions and tissue fluids of an individual is controlled by a single gene *S*, dominant in effect, which allows the secretion of the specific substance. There is no evidence of linkage between the character "secretor" and the A, B, or O groups.

Blood Group Substances from Erythrocytes

The earliest observations dealing with the isolation of the specific blood group substances from human erythrocytes were those of SCHIFF and ADELSBERGER³ and of LANDSTEINER and VAN DER SCHEER⁴ who obtained substances which showed group specific properties by extraction of the red-cells with dilute alcohol. HALLAUER⁵, using a similar technique, described the isolation of specific substances from erythrocytes

¹ H. LEHR, Z. Immunitäts. 66, 175 (1930). — T. PUTKONEN, Acta Soc. Med. Fenn. "Duodecim" A14 (1930).

² F. SCHIFF and H. SASAKI, Z. Immunitäts. 77, 129 (1932); Klin. Woch. 11, 1426 (1932). — H. SASAKI, Z. Immunitäts. 77, 101 (1932). — V. FRIEDENREICH and G. HARTMANN, Z. Immunitäts. 92, 141 (1938). — G. HARTMANN, "Group Antigens in Human Organs", Copenhagen 1941.

³ F. SCHIFF and L. ADELSBERGER, Z. Immunitäts. 40, 335 (1924).

⁴ K. LANDSTEINER and J. VAN DER SCHEER, J. exp. Med. 42, 123 (1925).

⁵ C. HALLAUER, Z. Immunitäts. 83, 114 (1934).

¹ Based on lectures given in Basle and Zürich in November 1946.

² From the Lister Institute of Preventive Medicine, London, S. W. 1.

³ A. S. WIENER, "Blood Groups and Transfusion". Thomas, Illinois, U.S.A.

of all three (A, B, and O) groups. The composition of the specific material isolated by HALLAUER was found to be very similar for each group substance examined and fell within the range 43.1–43.3 C, 7.1–8.5 H, 6.8–7.9% N. The substances were rich in sulphur and phosphorus. More recently STEPANOV, KUSIN, MAKAJEVA, and KOSJAKOV¹ have largely confirmed these observations and have again isolated small quantities of the group substances from A and B erythrocytes by means of alcoholic extraction. The A-substance is described as containing 5.9% N and giving rise to 53% reducing substances and about 16% glucosamine after acid hydrolysis. The A-substance shows a *laevo* rotation, $[\alpha] -25^{\circ}$ to -30° and contains about 3% arginine. The materials were soluble in water and give negative tests for glycogen, pentose, uronic acid, fructose, phosphorus and sulphur. Although these substances give strong *in vitro* reactions with the homologous iso-agglutinin, they are recorded as being devoid of antigenic properties.

Blood Group Substances from Animal Tissue Fluids and Secretions

The occurrence of the blood-group substances in a water-soluble form in the tissue fluids and secretions of the body has been known for many years and an examination of the extensive literature on the subject shows that an insight into the chemical nature of the specific A, B, and O group substances has been attained almost entirely through studies on these water-soluble components. SCHIFF² found that commercial peptone of animal origin contains a substance which possesses human blood group A specificity and subsequently GOEBEL³ isolated from this source a polysaccharide which shows intense A-activity. The most active material gave the following analytical figures:— C, 46.7, H, 6.5, N, 5.85, CH_3CO , 9.6% and yielded 73% of its weight reducing sugars after acid hydrolysis. The substance gave a weakly positive biuret reaction, a strong test for glucosamine and a negative reaction for uronic acid. The material was weakly *dextro* rotatory, $[\alpha] +11.5^{\circ}$. Similar investigations on the A-substance in peptone were carried out independently by FREUDENBERG and WESTPHAL⁴ who isolated a polysaccharide material almost identical in composition to that obtained by GOEBEL⁵. The specific rotation of the material was, however, slightly *laevo* rotatory. Glucosamine hydrochloride was isolated from the products of acid hydrolysis. In a later communication FREUDENBERG, WALSH, GRIESHABER, and

SCHIFFER¹ take the view that the amino acids present in the A-specific material are impurities and that in any event most of the amino acids quantitatively determined by the ninhydrin procedure of VAN SLYKE and DILLON² were due to the CO_2 evolved from the glucosamine present. It is known, however, that under the conditions recommended by VAN SLYKE no CO_2 is evolved from glucosamine. MEYER, SMYTH, and PALMER³, as a result of a study which involved the mucoids of pig gastric mucosa, isolated a neutral polysaccharide which possessed intense blood group A activity. The material contained equimolecular quantities of N-acetylglucosamine and galactose. The substance was considered to have a purity of about 75% on the basis of the glucosamine values and most preparations were reported to give a positive EHRLICH's diazo reaction, thus indicating the presence of histidine. All workers up to this time had detected amino acids in their most active specimens of A-substance but were uncertain whether to consider them as a true part of the specific complex or merely as contaminating substances and it was not until further investigations by LANDSTEINER and HARTE⁴ established that the purified A-substance possessed an amino-acid containing complex equivalent to about 35% of the total N of the material that amino acids were recognized as true components, firmly attached to the main polysaccharide moiety of the A-substance. The purest specimens, prepared by heating commercial mucin with formamide at 150°C according to the technique of FULLER⁵ for the isolation of bacterial polysaccharides, or by papain-HCl digestion of the mucin, gave analytical figures within the range C, 46.4–47.2, H, 6.6–6.9, N, 5.5–6.0, CH_3CO , 10.5–12.0% and are thus almost identical in composition with those obtained by earlier workers. LANDSTEINER and HARTE⁴ observed that during the isolation and purification of the A-substance there was frequently a considerable fall in the biological activity as measured by the inhibition of iso-agglutination. It may be said here that there are two methods in general use for the determination of biological activity of the A-substance. The first is to measure the power of the substance to inhibit the iso-agglutination of A-erythrocytes by human or animal anti-A sera, the second is to determine the amount of A-substance which will prevent the hæmolysis of sheep erythrocytes by an anti-A rabbit immune serum. The hæmolysis test is generally believed to measure the "Forssman" or heterophile component of the A-agglutinin, and is accepted as

¹ A. V. STEPANOV, A. KUSIN, Z. MAKAJEVA, and P. KOSJAKOV *Biochimica* 5, 547 (1940).

² F. SCHIFF, *Zbl. Bakt.*, 1. Abt. Ref. 98, 94 (1930).

³ W. F. GOEBEL, *J. exp. Med.* 68, 221 (1938).

⁴ K. FREUDENBERG and O. WESTPHAL, *Sitzsber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math. Naturwiss. Kl.* 1940, 9. Abh.

⁵ W. F. GOEBEL, *J. exp. Med.* 68, 221 (1938).

¹ K. FREUDENBERG, H. WALSH, H. GRIESHABER, and A. SCHIFFER, *Sitzsber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math. Naturwiss. Kl.* 1940, 3. Abh.

² D. D. VAN SLYKE and R. T. DILLON, *C. r. Lab. Carlsberg* 22, 480 (1938). — D. D. VAN SLYKE, R. T. DILLON, D. A. MACFADYEN and P. HAMILTON, *J. biol. Chem.* 141, 627 (1941).

³ K. MEYER, E. SMYTH and J. PALMER, *J. biol. Chem.* 119, 73 (1937).

⁴ K. LANDSTEINER and R. A. HARTE, *J. exp. Med.* 71, 551 (1940).

⁵ A. T. FULLER, *Brit. J. exp. Path.* 19, 130 (1938).

measuring a different, although closely related, serological property of the A-substance from that determined by the iso-agglutination inhibition technique.

It was at about this time that I became engaged on the isolation and characterization of the AB0 blood group substances and in view of the known lability of cellular and tissue antigens as exemplified by certain bacterial antigens¹ it was recognized that considerable care would have to be taken if the blood group complexes were to be obtained in their "native" condition, that is, with their chemical, physical and immunological properties unchanged. Valuable experience had already been gained during a study of a closely related problem, the isolation of certain labile bacterial antigens² and the application of this knowledge enabled suitable methods to be employed which avoided extreme p_H values or high temperatures. The use of these restricted conditions for the manipulation of the large labile molecular species which carry the blood group specific characters, allowed certain irreversible changes to be avoided or reduced to a minimum and in consequence it was possible to obtain from pepsin, peptone and pig gastric mucin³ of commercial origin a purified undegraded A-substance, and as we shall see later, the A, B, and 0 specific substances from human tissue fluids and secretions. The fractionation of commercial gastric mucin from aqueous solution by sodium sulphate, the extraction of the A-substance into 90% liquid phenol and its subsequent separation by means of fractional precipitation from cold organic solvents such as formamide, ethylene glycol, glacial acetic acid-ammonium acetate mixture, etc. resulted in an excellent yield of a serologically active polysaccharide-amino-acid complex being obtained. The material was found to be similar in composition to the earlier preparations of LANDSTEINER and of GOEBEL but a number of important differences in the physical and serological properties of our preparations were observed. The material isolated possessed in full the property shown by crude gastric mucin of inhibiting the iso-agglutination of A-erythrocytes by natural anti-A (α) agglutinins, retained completely the high viscosity of the original mucin, was apparently homogeneous when examined at p_H 4.0 and 8.0 in the Tiselius electrophoresis apparatus, and retained the original property of the crude mucin of forming an elastic gel on the addition of borate buffer at p_H 8.5. The addition of this reagent will reveal at once, according to the formation or not of an elastic gel, whether the material has been degraded during the course of its preparation.

The undegraded substance shows a relatively high viscosity, η , 2.8 at a concentration of 0.5% in saline. Analytical figures for different preparations of the most active and electrophoretically homogeneous material vary within the limits C, 44.8–45.8, H, 6.5–6.9, N, 5.9–6.1 (DUMAS). CH_3CO , 9.0–10.0%. Hydrolysis of good specimens of the substance with HCl gives rise to about 53% reducing sugars, 32–34% hexosamine, determined by a modification of the method of ELSON and MORGAN¹, 4.6–4.8% amino N (VAN SLYKE) and 2.4–2.6% amino acid N. It was observed, however, that besides the blood group A activity, the preparations always showed human blood group 0 character and that this activity increased in parallel with the increase in A activity during the isolation and purification of the A-substance. It was found, however, that some preparations of A-substance isolated from pseudomucinous ovarian cyst fluids (to be described later) were practically devoid of 0-specificity. Furthermore, the best specimens of human A-substance which showed no 0-character possessed two or three times the activity of the electrophoretically homogeneous pig gastric mucin "A-substance". It is to be emphasized however that, in common with most workers, we prepared our "A-substance" from commercial specimens of pig mucin, peptone or pepsin and that it was not known to what extent the properties of the A-substance in these materials were changed by the process of manufacture or depended on the source of the starting material. Our experience with the blood group substances in saliva and gastric juice, in confirmation of the earlier observations of others², established differences in the group specificity of the secretions in man and it seemed not improbable that similar serological differences occurred in the mucin preparations derived from individual pig's stomachs. An examination of the serological properties of the mucoids isolated from single stomachs was therefore undertaken and in the first series of 24 stomachs examined 14 were found to possess A-character and showed relatively weak or negligible 0-specificity, whereas the remaining 10 stomachs yielded a mucoid material possessing strong 0-character and showed no trace of A-activity³. These results established that in pig gastric mucin there can occur in place of the A-substance a mucoid material which possesses a group character similar to, or identical with, the so-called human blood group 0 factor. The 0-substance has chemical and physical properties very similar to those of A-substance and until recently no technique for the separation of these substances, the one from the other in a mixture, has been described.

¹ A. BOIVIN and L. MESROBEANU, C. r. Soc. Biol. Paris 112, 76 (1935). – W. T. J. MORGAN, Brit. med. Bull. 2, 281 (1944).

² W. T. J. MORGAN, Biochem. J. 31, 2003 (1937). – W. T. J. MORGAN and S. M. PARTRIDGE, Nature (London) 143, 1025 (1939); Biochem. J. 34, 169 (1940); 35, 1140 (1941); Brit. J. exp. Path. 23, 151 (1942). – S. M. PARTRIDGE and W. T. J. MORGAN, Brit. J. exp. Path. 21, 180 (1940). – G. G. FREEMAN, Biochem. J. 37, 601 (1943).

³ W. T. J. MORGAN and H. K. KING, Biochem. J. 37, 640 (1943).

¹ L. A. ELSON and W. T. J. MORGAN, Biochem. J. 27, 1824 (1933).

² F. SCHIFF and H. SASAKI, Z. Immunitäts. 77, 129, (1932); Klin. Woch. 11, 1946 (1932). – H. SASAKI, Z. Immunitäts. 77, 101 (1932). – E. WITEBSKI and N. C. KLENDSHOJ, J. exp. Med. 72, 663 (1940); 73, 655 (1941).

³ D. AMINOFF, W. T. J. MORGAN, and W. M. WATKINS, Nature (London) 158, 879 (1946).

These results show conclusively that the A and O group character of the so-called "A-substance" isolated from commercial mucin, pepsin or peptone is due to the different (A and O) specificities of the mucoids of individual pig's stomach linings used to make the original "pool" of material.

An entirely independent approach to the same problem, the homogeneity of the A-substance prepared from gastric mucin, has also been described by BENDICH, KABAT, and BEZER¹. These workers concluded that the usual chemical and physical techniques for the separation of mucoids carrying the blood group specific characters were inadequate and developed an immunochemical method for estimating the absolute purity of the preparations of blood group A-substance by determining in quantitative precipitation tests the proportion of the total glucosamine in the preparation which was precipitated by excess anti-A immunobody. Values up to about 84% for the purity of a number of specimens of A-substance from individual pig stomachs were obtained. Of ten stomachs studied only seven yielded products with A-activity. All ten purified preparations, however, showed very similar properties with respect to nitrogen (5.7–6.6%), reducing sugar (55–61%), acetyl (9.1–11.3%) and relative viscosity. The mucoid we have described as possessing O-character alone is presumably the material described as "inactive" by BENDICH, KABAT, and BEZER. The very similar chemical and physical properties and behaviour of the specific blood group substances, and of the closely related but inactive mucoids which undoubtedly occur in native tissue fluids and secretions, has up to the present time forced one to rely almost exclusively on serological techniques for their differentiation. We have found that the success or failure of special techniques elaborated to separate the mucoids in mixtures of this kind can be readily followed by determining, by means of quantitative serological inhibition tests, the ratio of the activity of the appropriate specific characters A, B, or O. "Inactive" mucoids, that is those not possessing A, B or O activity, can be detected in the presence of material showing these characters by means of this type of test.

The A and O substances obtained from pig gastric mucin do not give a positive colour reaction² with Ehrlich's reagent (*p*-dimethylaminobenzaldehyde in alcoholic HCl) but give rise to a strong purple colour if they are previously heated for a short-time at 100° C with 0.05 N Na₂CO₃, according to the method described by MORGAN and ELSON.² The maximum colour develops under these conditions in about 7 minutes, according to the conditions of heating, and is equivalent to approximately 16% of N-acetylglucos-

amine, or about half of the total glucosamine contained in the specific substances. The course of the colour development is shown in Fig. 1 where the colour intensity, measured in a photoelectric colorimeter and

Table I

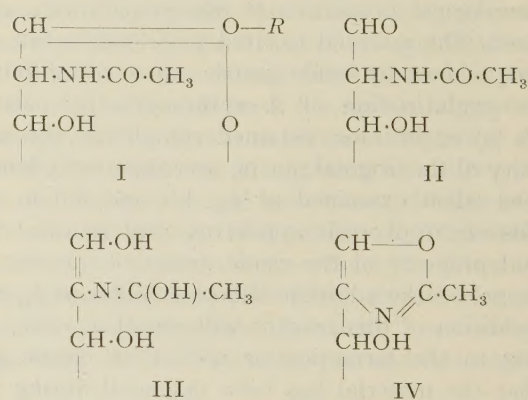
Blood group of person	Specific agglutinable substance in the erythrocytes	Specific iso-agglutinin in the serum
A	A	anti-B (β)
B	B	anti-A (α)
AB	A and B	—
O	O	anti-A (α) and anti-B (β)

Table II

Time of heating (minutes)	A-substance from pig mucin		A-substance from ovarian cyst fluid	
	Maximum dilution ($\cdot 10^3$) of A-substance giving complete inhibition	% of original activity	Maximum dilution ($\cdot 10^3$) of A-substance giving complete inhibition	% of original activity
0	1:640	100	1:1,280	100
4	1:20	3.1	1:20	1.5
7	1:5	0.7	1:5	0.3

The inhibition of iso-agglutination of human anti-A (alpha) serum by A-substance of animal and human origin after treatment with 0.05 N Na₂CO₃ at 100° C.

expressed in terms of the equivalent amount of N-acetylglucosamine, is plotted against time of heating in 0.05 N Na₂CO₃ solution. The rapid destruction of the colour producing substance on heating further



with alkali is clearly indicated. At the same time the specific mucoids develop 4–5% reducing sugars, expressed as glucose and determined by the copper reduction method of SOMOGYI¹, and show a rapid

¹ E. A. KABAT, A. BENDICH, and A. E. BEZER, J. exp. Med. 83, 477 (1946). — A. BENDICH, E. A. KABAT, and A. E. BEZER, J. exp. Med. 83, 485 (1946).

² W. T. J. MORGAN and L. A. ELSON, Biochem. J. 28, 988 (1934).

¹ M. SOMOGYI, J. biol. Chem. 117, 771 (1937).

destruction of the serological activity as measured by the capacity of the substance to inhibit the agglutinating action of anti-A (α) on A-cells (see Table II). We believe that this mild treatment with alkali¹ causes some of the N-acetylglucosamine molecules within the specific blood group complex (I) to be changed so that a reducing aldehyde group is formed (II), which, in the presence of alkali, changes to the enolic structure (III) and eliminates water with the formation of a heterocyclic ring (IV). It is presumably a 2:4 disubstituted oxazole (or oxazoline) of this kind which con-

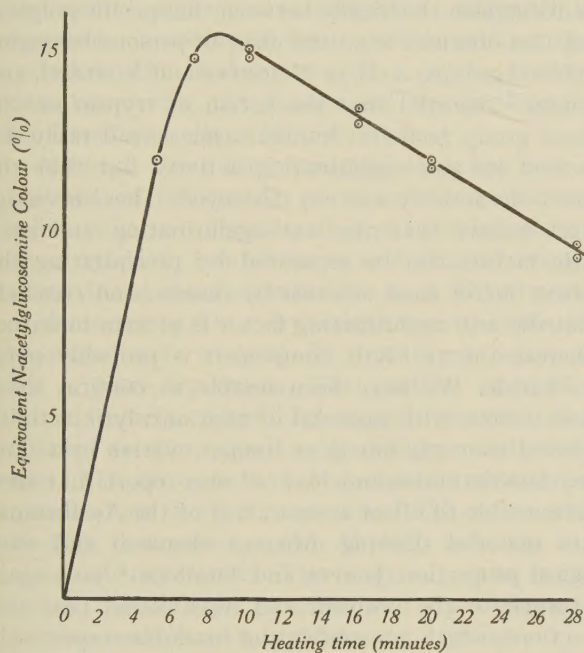


Fig. 1.

denses with the *p*-dimethylaminobenzaldehyde and gives rise to the reddish purple colouration². Dialysis of the blood group A substance after it has been treated with alkali to yield the maximum colour with Ehrlich's reagent shows that about two-thirds of the total material is now able to diffuse through a cellophane membrane³. The material which diffuses contains almost the whole (90%) of the components that give an immediate colour with *p*-dimethylaminobenzaldehyde and which reduce SOMOGYI's copper reagent. The material retained by the cellophane membrane, on the other hand, contains the major part of the amino acid (80–90%) and the remaining part of the glucosamine (about 50%) and other carbohydrate molecules. This material is electrophoretically homogeneous at p_H 4.0 and 8.0, sediments as a single com-

ponent in the ultracentrifuge (sedimentation constant, S , $1.6 \cdot 10^{-13}$, C , 1.0% corrected to H_2O , $20^\circ C$) and possesses a probable molecular weight of about 17,000. The complex is without reducing power until after acid hydrolysis. It is not possible to estimate the total glucosamine in the diffusate since the N-acetylglucosamine which has been converted to the oxazole derivate by the action of alkali cannot be hydrolysed by acid to give again the original amount of glucosamine, for treatment of the oxazole with dilute (0.1 N) HCl at $18^\circ C$ gives rise to considerable decomposition. The alkali labile linkages in the specific substances would appear to be glycoside linkages which are associated with C atom 1 of the acetylglucosamine units. It is to be emphasized that N-acetyl- and N-benzoylmethylglucosamides, however, are not changed under the same conditions of alkaline hydrolysis and yield neither sugars nor a colour with Ehrlich's reagent.

An examination of the A-substance after methylation and subsequent acid hydrolysis has been reported by BRAY, HENRY, and STACEY¹. These workers recognize that under the strongly alkaline conditions employed extensive break-down of the molecular complex occurs together with considerable destruction of the specific blood group character. The methylated products dialyse readily through parchment membranes and are therefore presumably of small molecular size. Nevertheless, an essentially homogeneous, stable methylated carbohydrate residue was isolated and, after acid hydrolysis, was shown to yield 2:3:4:6 tetramethyl-*d*-mannose, 2:3:4:6 tetramethyl-*d*-galactose, 3:4:6 trimethyl-N-acetyl- α -methyl-*d*-glucosaminide and 2:3:4 trimethyl- α -methyl-*l*-fucoside. The identification of the last component indicated that *l*-fucose constitutes a terminal residue, and from the direct isolation of the trimethyl derivative of methylglucosaminide, that N-acetylglucosamine also occupies a terminal position. In view of the fact that the pepsin and gastric mucin used as a source of the A-substance in these investigations was of commercial origin, it is necessary to keep in mind that certain of the sugars identified could arise from the contaminating O-substance², the monosaccharide components of which have not yet been identified.

A preliminary qualitative examination of the amino acids present in the products of acid hydrolysis of the A-substance was made by MORGAN³ using the chromatographic method of CONSDEN, GORDON, and MARTIN⁴. The presence of 15 amino acids was in-

¹ H. G. BRAY, H. HENRY, and M. STACEY, *Biochem. J.* **40**, 124 (1946).

² E. WITEBSKY and N. C. KLENDSHOJ, *J. exp. Med.* **72**, 663 (1940); **73**, 655 (1941). – D. AMINOFF, W. T. J. MORGAN, and W. M. WATKINS, *Nature (Lond.)* **158**, 879 (1946) – E. A. KABAT, A. BENDICH, and A. E. BEZER, *J. exp. Med.* **83**, 477 (1946).

³ W. T. J. MORGAN, *Brit. med. Bull.* **2**, 165 (1944).

⁴ R. CONSDEN, A. H. GORDON, and A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.* (1944).

¹ A. BENDICH, E. A. KABAT, and A. E. BEZER, *J. exp. Med.* **83**, 85 (1946).

² W. T. J. MORGAN, *Biochem. J.* **30**, 909 (1936); *Chem. Ind.* **57**, 1191 (1938). – T. WHITE, *J. chem. Soc.*, 428 (1940). – H. WENKER, *J. Am. chem. Soc.* **57**, 1079 (1935). – W. H. BROMUND and R. M. HERBST, *J. organ. Chem.* **10**, 267 (1945).

³ W. T. J. MORGAN, *Biochem. J.* **40**, XV (1946).

dicated. Cystine was absent. Since threonine was present in considerable concentration its amount was subsequently determined quantitatively by the method of SHINN and NICOLET¹ using the azeotropic distillation technique of MARTIN and SYNGE² to separate the acetaldehyde derived from threonine from a volatile aldehyde which might arise if a higher homologue of threonine such as hydroxyvaline, which would yield acetone on oxidation, is present in the specific substance. Control determinations were made on the sugar components of the A-substance so far identified i. e. *d*-galactose, *d*-mannose, N-acetylglucosamine and *l*-fucose, after they had received comparable acid treatment. The corrected figure for the threonine present in A-substance was 3.6–4.0%, an amount which indicates an abnormally high content (15–18%) of this amino acid in the amino-acid containing component. FREUDENBERG, WALSH, and MOLTER³ claim to have isolated crystalline threonine from the acid hydrolysis products of A-substance, but no details have been published. A more recent and complete analysis of the amino acids present in pig mucin A-substance by BRAND and SAIDEL⁴ gives the following values:— glycine, 1.6; valine, 0.7; isoleucine, 0.3; proline, 3.3; phenylalanine, 0.1; tryptophane, 0.2; histidine, 0.6; lysine, 1.0; aspartic acid, 0.8; glutamic acid, 1.3; serine, 1.9; and tyrosine, 0.3%. No figure for threonine is given.

Blood Group Substances from Human Sources

Most workers have encountered considerable difficulty in obtaining from human erythrocytes sufficient group specific substances for detailed immunochemical study (cf. LANDSTEINER⁵, BRAY, HENRY, and STACEY⁶) and in consequence investigations have utilized more and more human tissue fluids and secretions derived from "secreters" as a source of the group substances.

As a result of the detection of the blood group factors in urine by YOSIDA⁷ (1928) the isolation of the specific substances from this source has been thoroughly studied, more especially by FREUDENBERG and his co-workers. FREUDENBERG and EICHEL⁸, and FREUDENBERG and MOLTER⁹ from several hundred litres of

the appropriate urines isolated nitrogenous polysaccharides possessing blood group specific characters. The A-substance after very thorough fractionation contained about 40% acetylglucosamine, 15% galactose, 10% acetyl, and 4.4% C·CH₃. It was observed that A-substance which had been inactivated by gentle treatment with alkali was readily and completely reactivated by ketene. Furthermore, the hepatopancreatic juice of the snail, *Helix pomatia*, was also found to inactivate the A-substance and at the same time cause reducing substances equivalent to 25% glucose to be liberated. FREUDENBERG was unable to distinguish chemically between the specific polysaccharides obtained from the urine of persons belonging to blood groups, A, B, or O. JORPES and NORLEN¹, and JORPES² reported that the action of trypsin on the blood group factor in human urine considerably decreased its anti-agglutinating activity but that the anti-lytic activity was not destroyed. These investigators believe that the anti-agglutinating and anti-lytic factors can be separated by precipitating the former factor from solution by tannin, and conclude that the anti-agglutinating factor is protein in nature whereas the anti-lytic component is probably polysaccharide. We have been unable to confirm these observations with material of high anti-lytic activity derived from pig mucin or human ovarian cyst fluid and LANDSTEINER and HARTE³ also report that they were unable to effect a separation of the A-substance into material showing different chemical and serological properties. JORPES and THAINING⁴ have again returned to the problem and have found that two fractions, which are soluble and insoluble respectively in glacial acetic and in saturated ammonium sulphate, can be obtained from their crude urine A-substance. The insoluble material neutralizes anti-A agglutinins and is destroyed by activated papain and by the action of 0.5 N NaOH whereas the soluble material, which neutralizes the lytic activity of an anti-A or anti-sheep cell serum, is stable under these conditions. The former material is considered to be protein in nature, the latter polysaccharide. It is now known that urine is a poor source of the specific materials and for this reason its use for the preparation of blood group substances has been largely abandoned.

Little progress can be reported on the isolation and identification of the specific A, B, and O substances from human gastric juice. WITEBSKY and KLENSHOJ⁵ described the isolation of 13.3 mg of material showing group B activity from 110 ml of gastric juice. The

¹ L. A. SHINN and B. H. NICOLET, J. Am. chem. Soc. 61, 1615 (1939).

² A. J. P. MARTIN and R. L. M. SYNGE, Biochem. J. 35, 294 (1941).

³ K. FREUDENBERG, H. WALSH, and H. MOLTER, Naturwissenschaften 30, 87 (1942).

⁴ E. BRAND and L. J. SAIDEL, J. exp. Med. 83, 497 (1946).

⁵ K. LANDSTEINER, "The Specificity of Serological Reactions", Camb. Mass. U.S.A. (1945).

⁶ H. G. BRAY, H. HENRY, and M. STACEY, Biochem. J. 40, 124 (1946).

⁷ K. YOSIDA, Z. ges. exp. Med. 63, 331 (1928).

⁸ K. FREUDENBERG and H. EICHEL, Ann. Chemie 510, 240 (1934); 518, 97 (1935).

⁹ K. FREUDENBERG and H. MOLTER, Sitzsber. Heidelberg. Akad. Wiss., math.-naturwiss. Kl. 1939, 9. Abh.

¹ E. JORPES and G. NORLIN, Z. Immunitäts. 81, 152 (1933). — E. JORPES and G. NORLIN, Acta path. microbiol. Scand. 11, 91 (1934).

² E. JORPES, Acta path. microbiol. Scand. 11, 99 (1934).

³ K. LANDSTEINER and R. A. HARTE, J. exp. Med. 71, 551 (1940).

⁴ E. JORPES and T. THAINING, J. Immunol. 51, 221 (1945).

⁵ E. WITEBSKY and N. C. KLENSHOJ, J. exp. Med. 72, 663 (1940); 73, 655 (1941).

substance contained 1.5% N and gave rise to 75% reducing sugars. A similar substance was isolated from the gastric juice of a group O person¹, but owing to lack of material, detailed chemical examination was not undertaken. A recent study of the group substances from this source by BRAY, HENRY, and STACEY² has again emphasized the complex nature of the problem. These workers, however, described the isolation of somewhat degraded polysaccharide materials rather than the "native" specific substances. The pooled products obtained from individuals belonging to groups A, B, and O proved to be similar in appearance and general properties, although wide variations in analytical figures within each group are recorded. The inadequate nature of the serological data concerning the donors and the final products renders the results of limited value.

Although much immunological work has been carried out on the specific group substances in human saliva only one adequate attempt to isolate them has been recorded. LANDSTEINER and HARTE³ recovered about 15 mg of active substance from 500 ml portions of the secretion. On a dry-weight basis the substances recovered were at least 50 times more active than the original dry saliva. The purified material obtained from "secretors" belonging to groups A, B, and O failed to show significantly different analytical figures. The nitrogenous polysaccharides obtained contained about 5.5% N, and gave 2.5% amino-acid N, 21–23% hexosamine, and 45–48% reducing sugars after acid hydrolysis. The materials gave negative colour reactions for tyrosine and tryptophane, but positive reactions for histidine and arginine.

PUTKONEN⁴ demonstrated that the concentration of the specific substances in the saliva and gastric juice of "secretors" is higher than in other tissue fluids and secretions, but it has been shown that even in saliva and gastric juice the active substance represents only a small part of the total solid matter. Furthermore, these secretions are difficult to obtain from individual donors in useful quantities. In certain instances, however, mucilaginous fluids accumulate in man as a result of pathological changes or of tissue overgrowth, and the knowledge that pseudomucinous ovarian cysts are of frequent occurrence prompted MORGAN and VAN HEYNINGEN⁵ (1944) to examine the fluid contents of these adenomata for blood group substances. An examination of nearly 100 pseudomucinous cyst fluids has revealed that, when they are obtained from women who possess the power to secrete their specific blood group substances in a water-soluble form, the fluids

are a convenient and potent source of the group specific substances A, B, and O. The volume of individual cyst fluids varies from a few hundred ml to many litres, and individual cysts from secretors belonging to group A have been found to contain several grammes of the A-substance which can be purified by methods similar to those elaborated for the isolation of the A-substance from gastric mucin of the pig or commercial peptone or pepsin. The activity of the native cyst fluid has been compared¹ with that of known specimens of salivas on a dry-weight basis and it has been shown that cyst fluids belonging to group A frequently contain more than one hundred times as much specific substance per ml as is contained in the same quantity of a highly active specimen of A-saliva.

The A-substance present in the pseudomucinous ovarian cyst fluids of secretors belonging to group A was first isolated by KING and MORGAN². More recent work has yielded an electrophoretically homogeneous substance specimens of which yield analytical figures within the range 45.5–46.5% C, 6.7–6.9% H, 5.9 to 6.1% N, 8.5–9.5% CH₃CO. Acid hydrolysis gives rise to 53% reducing sugars, 33–34% hexosamine, 4.6 to 5.0 of α -amino N (VAN SLYKE), and 2.5–2.7% amino-acid N. The A-substance behaves with dilute alkali exactly as has been described for the A-substance derived from pig gastric mucin.

The active cyst fluids from secretors belonging to groups B and O also offer a convenient source of these factors but in our experience they contain much less of the appropriate specific substance than does a good specimen of A-cyst fluid.

The isolation and characterization of an O-substance has been recorded by MORGAN and WADDELL³, and it is of interest to note that the O-specific material contains about the same amount of nitrogen, hexosamine and amino acids as the A-substance and yields after acid hydrolysis similar quantities of reducing sugars, α -amino groups (VAN SLYKE) and amino acids. Specimens of A and O substances, hydrolysed for 32 hrs. with 5 N HCl at 100° were examined at the same time and under identical conditions by the partition chromatographic method of CONSDEN, GORDON, and MARTIN⁴ using phenol and collidine. The chromatograms revealed no differences with respect to number, position and intensity of the amino acid "spots". The relative intensity of the "spots" in decreasing order was as follows;— (1) threonine, (2) leucine, iso-leucine, (3) serine, valine, alanine, (4) glycine, glutamic and aspartic acids, (5) lysine, arginine, phenylalanine, (6) hydroxyproline, (7) histidine and methionine. No

¹ E. WITEBSKY and N. C. KLENDSHOJ, *J. exp. Med.* 72, 663 (1940); 73, 655 (1941).

² H. G. BRAY, H. HENRY, and M. STACEY, *Biochem. J.* 40, 130 (1946).

³ K. LANDSTEINER and R. A. HARTE, *J. biol. Chem.* 140, 673 (1941).

⁴ T. PUTKONEN, *Acta Soc. Med. Fenn. "Duodecim"* A 14 (1930).

⁵ W. T. J. MORGAN and R. VAN HEYNINGEN, *Brit. J. exp. Path.* 25, 5 (1944).

¹ W. T. J. MORGAN and R. VAN HEYNINGEN, *Brit. J. exp. Path.* 25, 5 (1944).

² H. K. KING and W. T. J. MORGAN, *Biochem. J.* 38, X (1944).

³ W. T. J. MORGAN and M. B. R. WADDELL, *Brit. J. exp. Path.* 26, 387 (1945).

⁴ R. CONSDEN, A. H. GORDON, and A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.* (1944).

cystine was present. The specific rotation of our most active preparation of O-substance is laevo rotatory, $[\alpha]_{54-61}^{23 \pm 3^\circ}$, but this value cannot be accepted as final until further evidence as to the homogeneity of the preparation is forthcoming. The O-substance on treatment with dilute alkali behaves similarly to the A-substance of animal and human origin and preparations of B-substance likewise react with Ehrlich's reagent after heating with dilute alkali for a few minutes. The extreme lability of the three specific blood group substances in the presence of alkali is a characteristic property, for it has not been encountered during the examination of several other complex polysaccharides which contain hexosamine molecules. Similar conclusions¹ have been reached by HOLTZMAN, BENNETT, BROWN, and NIEMANN as a result of their studies on the correlation between the A-specific activity and the colour produced by the action of Ehrlich's reagent on alkali treated A-substances of different origin.

The amino-acid components in the group substances may be joined by glycoside linkage to C atom 1 of some of the N-acetyl hexosamine molecules, if so it is most probably this linkage which is so extremely susceptible to the action of alkali. On the other hand the peptide linkage could occur through the free OH groups in the glucosamine component. The A-substance contains significantly more acetyl groups than can be accounted for on the basis of its content of N-acetylglucosamine and although O-acetyl groups are known to be extremely labile in the presence of alkali their presence could not explain the observed development of a positive reaction with Ehrlich's reagent after treatment of the group substance with alkali, unless they were attached to C atom 1 in the hexosamine molecules.

The Specific Immunological Properties of the Group Substances

The presence of an amino-acid containing component as part of the specific blood group complexes leads one to expect that these substances would possess pronounced antigenic properties *per se*, but it has been found that the carefully purified specific materials are not strongly antigenic when tested in selected rabbits and seldom give rise to sera which show anti-A or anti-B agglutinating titres higher than five or ten times the titre of the animal's natural agglutinins before immunization.

The species of animal chosen for antigenic tests of this kind, however, is known to influence quantitatively the extent of the immune response, and as a result of experiments carried with Dr. LOUTIT during 1944 on 40 volunteers it was found that in man the

injection of A-substance of both animal and human origin leads to a more regular production of anti-A agglutinin than had been observed in the rabbit. In certain instances extremely high agglutinin titres (1:50,000) were obtained in group O individuals whereas other group O persons receiving the same amount of the same blood group preparation showed no significant increase above their original natural anti-A (α) agglutinin levels. The use of partially purified A and B substances of animal origin to induce the formation of anti-A and anti-B agglutinins in man has been described by WITEBSKY, KLENDSHOJ, and MCNEIL¹ and by the injection of small doses of human saliva into individuals of the appropriate blood groups, WIENER, SOBLE, and POLIVKA² obtained agglutinating sera which were suitable for the typing of unknown bloods. Similar results have been obtained by CHRISTIAENS, SEVIN, and CORNILLOT³. Rabbits immunized with a purified group O substance frequently give rise to quite useful anti-O agglutinating sera which after absorption with A₁B cells react at a dilution of 1:1000 with O cells but give no significant agglutination at any dilution with some A₁B cells⁴.

The predominantly polysaccharide nature of the specific group substances suggested that they could be converted into full antigens by means of a simple method which had been used originally to convert certain non-antigenic specific bacterial polysaccharides⁵ and plant polysaccharides, such as kanten, gum arabic and cherry gum⁶ into full antigens, and indeed artificial complexes were made from A-substance of animal⁷ and human origin⁸ by means of this method and were found to be potent antigens. A partially purified human B-substance likewise gave rise to an antigenic complex⁹. Anti-A and anti-B sera produced in rabbits by means of these artificial antigens were exceedingly potent and very specific^{9,10}, and a useful α (α) reagent which agglutinates A₁ and A₁B cells and not A₂ or A₂B cells can be readily prepared from the anti-A serum. The use of these high titred anti-A immune sera for the detection of weakly reacting erythrocytes such as those of A₂B and A₃ and their use

¹ E. WITEBSKY, N. C. KLENDSHOJ, and C. MCNEIL, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **55**, 167 (1944).

² A. S. WIENER, R. SOBLE, and H. POLIVKA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **58**, 310 (1945).

³ L. CHRISTIAENS, SEVIN, and CORNILLOT, *C. r. Soc. Biol.* **140**, 519 (1946).

⁴ W. T. J. MORGAN and M. B. R. WADDELL, *Brit. J. exp. Path.* **26**, 387 (1945).

⁵ W. T. J. MORGAN and S. M. PARTRIDGE, *Biochem. J.* **35**, 1140 (1941).

⁶ S. M. PARTRIDGE and W. T. J. MORGAN, *Brit. J. exp. Path.* **23**, 84 (1942).

⁷ W. T. J. MORGAN, *Brit. J. exp. Path.* **24**, 41 (1943).

⁸ W. T. J. MORGAN and W. M. WATKINS, *Brit. J. exp. Path.* **25**, 221 (1944).

⁹ S. G. RAINSFORD and W. T. J. MORGAN, *Lancet* **250**, 154 (1946).

¹⁰ W. T. J. MORGAN and W. M. WATKINS, *Brit. J. exp. Path.* **26**, 247 (1945).

¹ G. HOLTZMAN, E. BENNETT, D. BROWN, and C. NIEMANN, *Arch. Biochem.* **11**, 415 (1946).

as reagents in certain clinical studies involving the technique of differential agglutination is indicated¹.

Enzymic Decomposition of the Group Substances

SCHIFF and WEILER² observed that the normal faces of persons of all groups and of certain animals contain an enzyme which readily inactivates the A and B blood group substances. The enzyme is also present in saliva² and is found in the saliva of secretors and non-secretors alike³. The enzyme does not appear to be derived from the bacteria found in the mouth and it has been suggested by SCHIFF and BURÓN⁴ that the enzyme is secreted by the glandular cells. LANDSTEINER and CHASE⁵ reported that A-substance was decomposed by an organism, *Pullulomyxa Botrytis*⁶, which was isolated by MORGAN and THAYSEN⁷, and shown to be active in decomposing a number of specific polysaccharides of bacterial origin.

SCHIFF⁸ observed that cultures and culture filtrates of some strains of *Cl. welchii* possess an enzyme which inactivates the blood group A substance contained in peptone and human saliva. The decomposition was considered specific for A-substance. We have also examined culture filtrates from *Cl. welchii* Types A and B and have found them to contain, after suitable purification and concentration, enzyme systems which rapidly destroy the specific serological characters of the purified A, B, and O substances. Concentrated culture filtrates obtained from Type-A strains contain these enzymes together with collagenase (K toxin⁹), hyaluronidase and α - and θ -toxins¹⁰. The most potent enzyme preparations have been obtained from *Cl. welchii*, Type-B filtrates.

It was observed¹¹ that heating the culture filtrate for 1 hour at 56° C inactivated the enzyme which destroyed the A and B specificity of human and animal group substances whereas the enzyme responsible for the destruction of the corresponding O-character remained unimpaired. The results of some preliminary experiments show that the destruction of the serological activity of the A and B substances by the enzyme preparations is prevented by an antiserum produced against a crude *Cl. welchii*, Type-A filtrate

and which was known to contain α -antitoxin, θ -antitoxin, anti-collagenase and anti-hyaluronidase and certainly possessed antibodies against other unidentified antigenic components present in the original culture filtrate. This multivalent antiserum, however, failed to inhibit the action of the thermostable enzyme responsible for the destruction of the O-substance.

A few observations have already been made on the chemical changes brought about by the action of a mixed enzyme preparation obtained from *Cl. welchii*, Type A, on the "A-substance" of pig mucin, and of the heat stable O-active enzyme on purified human O-substance. In the former instance after the group substance had been rendered serologically inactive by the appropriate enzyme, reducing sugars were present and primary amino groups, as measured by VAN SLYKE's method, formed, and in each instance a small part of the specific substance was found to diffuse through a cellophane membrane. So far we have not succeeded in destroying the group specificity of the intact erythrocyte by means of these enzyme preparations but the corresponding serologically active stromata, especially those belonging to group O can be readily inactivated. The experiments are being extended in an attempt to relate the different chemical changes observed to the action of single enzymes, and the specific serological characters with known chemical constitution.

Genetical Considerations

Geneticists have established that the four classical blood group characters A, B, AB, and O are inherited in man according to Mendelian laws, and BERNSTEIN's theory of inheritance postulates that the blood group of the individual depends on the presence of two of three allelomorphous genes any of which are capable of occupying the same two loci on the chromosome pair which carries them. Group O is due to the operation of a pair of these genes, *oo*, recessive in effect whereas the groups A and B are each produced by the substitution of gene *A* or *B* (using the letters defining the blood group character to designate the gene), at the locus of *O*. The dominance of gene *A* or *B* over *O* is almost complete and the result of the presence of a single gene *A* or *B* is nearly or quite indistinguishable from that induced by the presence of a double gene dose, *AA* or *BB*.

With this knowledge of the blood group relationships it is possible to consider the significance of the presence or absence of the so-called O-substance in the secretions and tissue fluids of persons of different genotypes, more especially of those individuals belonging to the genotype *A₁B*. For example it is known that *A₁B* persons who secrete the A and B factors in a water-soluble form, also secrete O-substance, whereas according to BERNSTEIN's theory, persons of genotype

¹ W. T. J. MORGAN, Brit. J. exp. Path. 24, 41 (1943).

² F. SCHIFF and G. WEILER, Biochem. Z. 235, 454 (1931); 239, 89 (1931).

³ G. ALBIN MATSON and E. O. BRADY, J. Immunol. 30, 445 (1936).

⁴ F. SCHIFF and F. A. BURÓN, Klin. Wschr. 14, 710 (1935).

⁵ K. LANDSTEINER and M. W. CHASE, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 22, 713 (1935).

⁶ A. C. THAYSEN, J. Bact. 38, 355 (1939).

⁷ W. T. J. MORGAN and A. C. THAYSEN, Nature 132, 604 (1933).

⁸ F. SCHIFF, Klin. Wschr. 14, 750 (1935); J. Infect. Dis. 65, 127 (1939).

⁹ E. MASCHMANN, Biochem. Z. 295, 391 (1938). — L. OAKLEY, H. G. WARRACK, and W. E. VAN HEYNINGEN, J. Path. a. Bact. 58, 29 (1946).

¹⁰ C. L. OAKLEY, Bull. Hygiene 18, 781 (1943).

¹¹ W. T. J. MORGAN, Nature 158, 759 (1946).

A_1B do not contain the O -gene and are therefore unable to form O -substance. What then is the explanation for the presence of O factor in the secretions? It has been suggested that the so-called O -substance is a basic material which suitably modified by the A or B genes develops the additional character A or B respectively. It is therefore of interest to consider the secretion of the O -substance in the light of HIRSZFELD's¹ recent explanation for the reactivity of erythrocytes with anti- A , anti- B , and anti- O sera. HIRSZFELD subdivides group A bloods into "pleiades" A_j , A_r , A_m , A_2 , A_3 , A_4 , and A_5 arbitrarily chosen and arranged in increasing order of reactivity with anti- O serum. A similar relationship is said to hold for B -cells. It is claimed that the genotypes A_jA_j , A_jA_r , A_jA_m , A_jA_2 , and A_jO constitute a single phenotype which reacts strongly with anti- A and weakly with anti- O reagents. Individual genes correspond to each stage of mutation from O to A and the gene A_j confers less O -character on the erythrocytes than gene A_r which in turn confers less O -reactivity than genes A_m , A_2 , A_3 , etc. The individual genes which have reached a similar degree of mutation and which are therefore close together in the series of transitional forms, for example, A_j and A_r , show the phenomenon of partial dominance, whereas those further apart, such as A_j and O , show absolute dominance. Thus the erythrocytes of individuals of the homozygous genotype A_jA_j and of the heterozygous genotype A_jO react equally well with an anti- O serum because the gene A_j which confers a weak but definite O -character to the cells, suppresses more or less completely the effect of any gene tending to confer stronger O character, such as A_r , A_m , A_2 or the O -gene itself. The completion of mutation from O to A or B is recognized in the rare gene forms A_c and B_c which are completely lacking in O -character and individuals containing A_c or B_c only in the genotype will fail to develop O -substance and will in consequence possess erythrocytes which are unable to react with anti- O agglutinin. The tissue fluids and secretions will, for the same reason, be free from O -substance. In the blood serum of such rare individuals the appearance of natural anti- O agglutinins can be expected and indeed in man a naturally occurring anti- O agglutinin is very occasionally observed. It follows, therefore, that persons possessing all other forms of the A or B gene, such as A_j or B_j , A_m or B_m , etc. will possess a genetic constitution which will induce the formation of some O -character and this will occur irrespective of the heterozygous or homozygous nature of the genotype. It will be at once apparent that this concept of gene structure will explain satisfactorily the presence of more or less O -substance in the erythrocytes and in the secretions and tissue fluids of individuals of the genotypes A_2A_2 ,

A_1A_2 , A_2B and A_1B where the "pleiade" of the person is not A_c or B_c . For some time past we have been examining on a quantitative basis the relationship of the amount of the group substances (A , B , and O) in a given secretion to the genotype of the individual and as a result of the investigations we are now able to classify secretors belonging to group A as A_1 or A_2 on the basis of the amount of A and O substance secreted in the tissue fluids or secretions. Similarly, it is possible to differentiate individuals belonging to the genotypes A_1B and A_2B by the same method. It is evident that the results of a biochemical approach along these lines will express in chemical terms one aspect of the specific functions of a gene, will reveal certain characteristic chemical differences in individuals and thus contribute to the understanding of the genetics of human blood groups.

Considerations of this kind open up a new field of investigation for the immunochemist. The isolation of the blood group substances as homogeneous molecular species from individuals of known genotype is their immediate problem and is one that is proving exceedingly difficult. In view of the importance of determining the precise differences in these closely related gene products for our understanding of the mechanism of gene action, however, it is a problem worthy of very serious study. Until this is accomplished statements as to the detailed composition and structure of these important biological materials must be accepted with reserve. The progress towards an understanding of the specificity of the AB0 system of human blood groups in terms of chemistry and physics reported in these lectures although strictly limited, is not inconsiderable. Perhaps some of the points discussed will suggest directions for future work. It is evident that there must be a greater appreciation by the chemist of the finer biological differences that exist in the blood group substances of individuals of different genotypes if homogeneous molecular species characteristic of the blood group are to have their chemical constitution related to the specific immunological properties of the substances. Furthermore, if such material, derived not from "group A blood", "group B saliva", "a group A tumor", etc. but from the blood, saliva and tumors of individuals of accurately known genotype, is finally obtained, it will be suitable for examination in the light of genetical data and a valuable contribution to the chemical aspects of human genetics will have been made.

Résumé

Cet article rend compte des essais d'isolation des substances spécifiques des groupes sanguins de l'homme. Elles sont déterminées comme étant des complexes mucoïdes ou polysaccharides-aminoacides et l'on traite de quelques-unes de leurs propriétés physiques, chimiques et immuno-chimiques. En isolant ces substances qui forment des

¹ L. HIRSZFELD and R. AMZEL, Ann. Inst. Pasteur 65, 251, 386 (1940).

complexes moléculaires homogènes, on estime pouvoir obtenir, si l'on opère sur le sang d'individus de génotype connu, un matériel permettant de déterminer l'influence des gènes *A*, *B* et *O* sur les caractères physiques des

produits de gènes très voisins. Les résultats des recherches entreprises dans ces directions constitueront une précieuse contribution à nos connaissances sur la chimie des substances génétiques humaines.

Über die optimale Zusammensetzung der Nahrung

Von E. ALBERT ZELLER,¹ Basel

Während der Kriegszeit lag dem Ernährungsphysiologen die Pflicht ob, diejenigen Unterlagen zu beschaffen, die es den zuständigen Behörden ermöglichen, die Einfuhr, Produktion und Verteilung der Nahrungsmittel so zu gestalten, daß die zugeteilten Rationen alle lebensnotwendigen Nährstoffe in ausreichenden Mengen enthielten². Diese Arbeit wurde durch den Mangel von allgemein anerkannten und physiologisch begründeten Maßstäben sehr erschwert. Es soll hier unter Zuhilfenahme einiger neuerer Beispiele das Problem der bestmöglichen Ernährung und dessen noch nicht durchschaubare Vielschichtigkeit darzustellen versucht werden.

Vorerst seien drei Termini technici eingeführt. Als *Minimum* kann diejenige Menge eines Nährstoffes definiert werden, die den Ausbruch einer ausgeprägten Mangelkrankheit verhindert. So sollen beispielsweise 7 mg Nikotinsäure-amid gerade genügen, um das Entstehen der Pellagra zu verhüten³. Doch ist offensichtlich die mit der Nahrung zugeführte Menge dieses Vitamins nicht allein für das Zustandekommen der Mangelkrankheit verantwortlich, da die Milch trotz ihres sehr geringen Niacingehalts⁴ pellagraverhindernd wirkt. Es scheint das Minimum somit keine konstante Größe darzustellen.

Vor fünfundzwanzig Jahren entwickelte E. V. McCOLLUM⁵ den Begriff des *Optimums*, der durch einige Versuche von H. C. SHERMAN dem Verständnis nahegebracht werden kann: Weiße Ratten wurden ausschließlich mit Weizen und Trockenmilch gefüttert. Während 63 Generationen gediehen die Tiere ausgezeichnet⁶, so daß die Kost als adäquat und weit über dem Minimum stehend bezeichnet werden muß. Und doch ist diese Nahrung, wenn das erreichbare Alter

als Kriterium gewählt wird, nicht optimal. Wurde ihr nämlich etwas Butter beigelegt, oder einfach das Verhältnis zwischen Weizen und Trockenmilch geändert, so stieg die durchschnittliche Lebensdauer deutlich an. Damit ist gerade auch die *adäquate* Zufuhr festgelegt worden, die in gewissen Fällen mit den *restricted intake requirements*¹ übereinstimmen mag, und die den weiten Bereich zwischen Minimum und Optimum unterteilt.

Synthese und Resorption von B-Vitaminen im Dickdarm

Einst hoffte man, ein einfaches Verfahren für die Bestimmung des Vitamin-C-Optimums zu besitzen. Die Methode bestand darin, vor und nach Belastung des Organismus mit Ascorbinsäure die Ausscheidung derselben durch die Niere zu verfolgen. Die folgenden Ausführungen sollen aber am Beispiel der B-Vitamine zeigen, daß die alleinige Kenntnis von der Exkretion eines Vitamins oder andern essentiellen Nährstoffes nur einen beschränkten Einblick in den Stoffwechsel und Bedarf solcher Stoffe erlaubt.

Nicht immer ist die in der Nahrung vorhandene Menge an B-Vitaminen in erster Linie für die Ausscheidung verantwortlich zu machen, da beispielsweise bei Wiederkäuern das Mehrfache der im Futter zugeführten B-Vitamine in der Milch gefunden wird. Diese Erscheinung ist nach den eingehenden Untersuchungen amerikanischer Autoren² auf die ausgezeichnete Vitaminbildung durch die Mikroorganismen des Pansens zurückzuführen. In den auf den Magen folgenden Dünndarmabschnitten werden die Vitamine resorbiert und auf diese Weise vom Wirt ausgenützt.

Auch die Flora des menschlichen Dickdarms ist zur Synthese von B-Vitaminen fähig, wie die großen im Kot ausgeschiedenen Mengen beweisen. Im Gegensatz zum Wiederkäuer findet die Bildung aber im Dickdarm statt, also *hinter* den gut resorbierenden Darmabschnitten. Es muß daher die Frage behandelt werden, ob die im Dickdarm aufgebauten B-Faktoren in den Körper des Wirts übertreten². Das reichliche Vorkommen dieser Stoffe im Kot zeigt ja gerade, daß jedenfalls ein großer Teil der Resorption entgeht.

¹ Food consumption levels. London 1944. Seite 31.

² Zusammenfassung: V. A. NAJJAR und R. BARRETT, "The synthesis of B Vitamins by intestinal bacteria", Vitamins and Hormones 3, 23 (1945).

¹ Vortrag, gehalten am 23. Oktober 1946 in der Naturforschenden Gesellschaft in Basel.

² Sir JOHN ORR und D. LUBBOCK, Feeding the people in war-time. London 1940. — A. FLEISCH, Ernährungsprobleme in Mangelzeiten. Basel 1947. — E. A. ZELLER, Die menschliche und tierische Ernährung in Mangelzeiten. Schweiz. landwirtschaftl. Mh. 23, 109 (1945). — H. KAPP, «Ärztliche Erfahrungen mit der Kriegsernährung in der Schweiz», Exper. 3, 11 (1947).

³ L. JUSTIN-BESANÇON und A. LWOFF, Vitamine antipellagreuze et avitaminoses nicotiniques. Paris 1942. Seiten 102–108.

⁴ Niacin = Nikotinsäure = Antipellagravitamin = PP-factor. E. V. McCOLLUM, The newer knowledge of nutrition, 2nd ed. New York 1926. Seite 46.

⁶ H. C. SHERMAN, Chemistry of food and nutrition, 6th ed. New York 1941. Seite 517, und persönliche Mitteilung.

Wenn die Niere eine größere Menge eines Vitamins ausscheidet, als in der Nahrung aufgenommen wird, kann die obige Frage wohl bejaht werden. Das trifft beim menschlichen Organismus für die beiden B-Faktoren Biotin^{1,2} und Pantothenensäure² zu. Meistens sind aber die Verhältnisse nicht so übersichtlich wie in diesen Fällen, so daß weitere Methoden herangezogen werden müssen, um weiterzukommen. – Es seien vorerst einige Versuche an Ratten angeführt.

Die Kohlehydrate beeinflussen die Zusammensetzung der Darmflora und damit die Synthese von B-Vitaminen. So nimmt beim isokalorischen Ersatz von Rohrzucker durch Milhzucker die Ausscheidung von Vitamin B₁ und B₂ durch die Niere erheblich zu, und die Tiere wachsen rascher, so daß wohl kein Zweifel besteht, daß ein Teil der im Dickdarm mehr gebildeten Vitamine dem Wirtstier wirklich zugute kommt³.

Bei der Ratte ist das Zökum stark entwickelt und der Ort einer reichen Darmflora. Wenn es operativ entfernt wird, so findet man bei jungen Ratten keinen auffälligen Unterschied gegenüber den Kontrollen. Wenn aber Rohrzucker im Futter reichlich vertreten ist, so verlieren die zökektomierten Tiere rapid an Gewicht, während die nicht operierten Ratten dieses annähernd halten⁴. Offenbar entwickelt sich bei reichlicher Rohrzuckerzufuhr eine Darmflora, die in geringerem Maße für die Synthese von B-Vitaminen geeignet ist. Die Kombination dieser nahrungsbedingten Minderleistung mit der Ausschaltung der Zökumflora führt zu einer ungenügenden Versorgung des Organismus.

Der operativen Ausschaltung der Vitaminsynthese der Darmbakterien kann die chemische entgegengestellt werden. Sie besteht in der Applikation von schwerlöslichen und -resorbierbaren Sulfonamiden. Die bei den Versuchstieren beobachtbaren Krankheitserscheinungen stimmen mit denjenigen von gewissen B-Avitaminosen überein, so daß der Schluß naheliegt, die Sulfonamide würden als bakteriostatische Agenzien die Vitaminbildung durch die Darmflora hemmen⁵.

Ein Teil der angedeuteten Methoden wurden auch an Menschen angewandt. Die Resultate lassen erkennen, daß außer den erwähnten Faktoren Biotin und Pantothenensäure auch weitere B-Vitamine durch die Dickdarmschleimhaut treten. Bei der Anwendung hoher Einläufe von Vitamin-B₁-Lösungen wird denn

auch ein ansehnlicher Teil des Vitamins im Harn wiedergefunden¹.

Die Übersicht über die im Darm sich abspielenden Verhältnisse wird durch die Fähigkeit von Darmbakterien, B-Vitamine zu zerstören, erschwert². Auch wenn auf diese Frage hier nicht näher eingegangen wird, so kann abschließend doch so viel festgestellt werden, daß die Flora des Dickdarms für den Vitamin-B-Haushalt von Bedeutung zu sein scheint.

Einfluß von Stoffwechselvorgängen auf den Vitamin-B-Bedarf

Das Ergebnis des voranstehenden Abschnitts ist von großer Bedeutung für die Frage des Vitamin-B-Bedarfs. Dieser wird weiterhin durch chemische Vorgänge in andern Organen beeinflusst.

Je mehr Fett in der Nahrung vorhanden ist, desto geringer ist der Vitamin-B₁-Bedarf und desto tiefer liegt der Vitaminspiegel, bei dem Beriberi auftritt³. Die einleuchtendste Erklärung geht von der Annahme aus, daß Vitamin B₁ hauptsächlich bei der Umwandlung von überschüssigem Kohlehydrat in Fett nötig sei⁴. Wenn dem Organismus reichlich Fett an Stelle von Kohlehydrat zugeführt wird, wird diese Funktion des Vitamins B₁ hinfällig³.

Im Jahre 1937 identifizierte C. A. ELVEHJEM das Antipellagravitamin mit der Nikotinsäure und deren Amid. Es zeigte sich aber bald, daß die Kenntnis des Niacingehalts allein nicht genügt, um zu entscheiden, ob eine Kost pellagrogen wirkt oder nicht. In der Aufklärung dieser Frage konnten in den letzten Jahren und Monaten erhebliche Fortschritte erzielt werden.

Mais ist bekanntlich die pellagrogene Kost par excellence. Diese Eigenschaft kommt sogar bei Ratten, die für gewöhnlich ohne eine äußere Zufuhr von Niacin auskommen, zum Ausdruck. Werden diese Tiere nämlich mit einer Kost gefüttert, die reichlich Maisgrieß enthält, so erfährt ihr Wachstum eine Verzögerung, die durch Niacin aufgehoben wird. Die Wachstums- hemmung kann aber auch durch Tryptophan ausgeschaltet werden, wobei 400 mg von Tryptophan die gleiche Wirkung wie 1 mg Niacin ausüben⁵. Der Mechanismus ist noch nicht aufgeklärt worden⁶ und erinnert an die B₁-sparende Funktion der Fette. Bei Bakterien kennt man die Ersetzbarkeit von Vitamin B₁ durch eine andere Aminosäure (Tyrosin)⁷.

Damit sind aber die Ursachen für die pellagra-erzeugende Eigenschaft von Mais noch nicht er-

¹ T. W. OPPEL, J. clin. Investigation 21, 630 (1942); zitiert nach V. A. NAJJAR c. s., l. c.

² C. W. DENKO, W. E. GRUNDY, N. C. WHEELER, C. R. HENDERSON, G. H. BERRYMAN, T. E. FRIEDEMANN und J. B. YOUNG, Arch. Biochem. 11, 109–117 (1946).

³ B. S. SCHWEIGERT, J. M. MCINTIRE, L. M. HENDERSON, C. A. ELVEHJEM, Arch. Biochem. 6, 403 (1945).

⁴ A. TAYLOR, D. PENNINGTON, J. THACKER, Texas Publications 4237, 135 (1942).

⁵ F. S. DAFT und W. H. SEBRELL, "Sulfonamides and vitamin deficiencies", Vitamins and Hormones 3, 49 (1945).

¹ V. A. NAJJAR c. s., l. c.

² R. BENESCH, Lancet 243, 718 (1945).

³ E. W. MCHENRY und M. L. CORNETT, "The role of vitamins in the anabolism of fats", Vitamins a. Hormones 2, 1 (1944).

⁴ D. V. WHIPPLE und C. F. CHURCH, J. biol. Chem. 114, CIII (1936).

⁵ W. A. KREHL, P. S. SARMA, L. J. TEPLY und C. A. ELVEHJEM, J. Nutrit. 31, 85 (1946).

⁶ Inzwischen sind mehrere Arbeiten zur Analysen desselben erschienen. Vgl. beispielsweise W. A. PERLZWEIG c. s., J. biol. Chem. 167, 511 (1947).

⁷ E. F. MÖLLER, Chemiker Ztg S. 211 (1943).

schöpft. Nach D. W. WOOLLEY¹ muß in Erwägung gezogen werden, daß auch ein Antibiotikum gegen Niacin in dieser Getreideart vorhanden ist, das das Niacin verdrängt und eine bestehende Knappheit noch verstärkt.

An dem Beispiel Mais/Pellagra tritt besonders deutlich zutage, wie viele Faktoren den Bedarf eines essentiellen Nährstoffes beeinflussen können und warum die an Tryptophan reiche Milch trotz ihrer Niacin-Armut pellagraverhindernd wirkt.

Methode der «self selection»

Unter den Verfahren, das Optimum experimentell zu ermitteln, verdient die «self selection» ein großes Interesse. Bei ihr wird den Versuchspersonen oder -tieren überlassen, unter den angebotenen Nahrungsmitteln oder reinen Nährstoffen eine qualitative und/oder quantitative Auswahl zu treffen.

Es ist schon lange bekannt, daß Versuchstiere unter bestimmten Bedingungen ihre Futteraufnahme freiwillig herabsetzen und dadurch ihre Lebensdauer verlängern. Wenn nämlich Tauben oder Ratten gezwungen werden, mehr geschälten Reis zu fressen, als sie von selbst zu sich nehmen würden, dann erkranken sie viel rascher an Beriberi als frei wählende Individuen.

Von Bedeutung ist aber nicht allein die Gesamtmenge der Nahrung, sondern auch ihre qualitative Zusammensetzung. Das zeigen die Versuche von C. N. FREY, die zu den frühesten gehören, die auf diesem Gebiete unternommen worden sind². Weiße Ratten erhielten weißes, angereichertes weißes und dunkles Brot zur Auswahl. Nach ein paar Tagen des Herumtastens fraßen die Tiere fast ausschließlich angereichertes Weißbrot und Vollbrot und ließen das gewöhnliche Weißbrot liegen.

Die ersten, die systematische Versuche über die «self selection» publizierten, waren T. B. OSBORNE und L. B. MENDEL³. Sie kamen zum Schluß, daß Mäuse und Ratten selbst nach Darreichung von chemisch reinen Nährstoffen und Gemischen derselben in der Regel eine zweckmäßige Wahl treffen.

Zu besonders schönen Erfolgen führte das Verfahren in den Händen von C. P. RICHTER⁴. Aus der Fülle der von ihm und seinen Mitarbeitern und in der Folge auch von andern Forschern gewonnenen Ergebnissen seien einige von allgemeinerem Interesse ausgewählt.

Bei der Unterbrechung des Gallenganges leidet bekanntlich die Fettverdauung. Die Fette werden deshalb aus der Kost weggelassen. Dasselbe tut aber auch

instinktiv die Ratte, wenn der Choledochus unterbunden wird¹.

Bei niedriger Umwelttemperatur werden die Fette in vermehrtem Maße verbrannt und dienen dazu, den erhöhten Wärmeverlust auszugleichen. Diesen Verhältnissen tragen die Ratten spontan Rechnung und wählen in einer warmen Umgebung eine Kost, die 70% Kohlehydrat und nur sehr wenig Fett enthält, in der Kälte dagegen eine solche, die aus 25% Fett und 30% Kohlehydraten besteht. Diejenigen Tiere, die aus irgendeinem Grunde ihre Fettaufnahme nicht steigern, gehen an den Umweltsbedingungen zugrunde².

Die durch subtotale Entfernung des Pankreas diabetisch gemachten Ratten sterben unter den typischen Erscheinungen der Zuckerkrankheit, wenn sie das übliche Futter erhalten. Wird ihnen aber die Auswahl selber überlassen, dann steigern sie die Konsumption an Eiweiß, B-Vitaminen und hauptsächlich an Fett. Die diabetischen Symptome verschwinden, der Blutzucker geht auf die Norm zurück und die vorher bewegungsunlustigen Tiere zeigen wieder die normale Spontanaktivität. Sie sind also imstande, trotz des schweren Eingriffs sich dank ihrer Fähigkeit der richtigen Kostwahl gesund zu halten³.

Der Ausfall der Funktion der Nebennierenrinde führt zu großen Kochsalzverlusten. Werden der Ratte die Nebennieren entfernt, so nimmt sie im «self selection»-Versuch mehr Kochsalz zu sich und bleibt dabei anscheinend gesund, während die Tiere, die keine Gelegenheit zu vermehrter Kochsalzzufuhr erhalten, sterben. Die ersteren ahmen somit das in der Therapie benützte Verfahren nach, einen großen Teil der Symptome des Nebennierenrindenausfalls durch die Verabreichung großer Kochsalzmengen zum Verschwinden zu bringen.

Es ist hier nicht möglich, das Entstehen dieser erstaunlichen Leistungen der Selbstauswahl zu diskutieren. Es sei nur angedeutet, daß im Fall der Ausschaltung der Nebenniere eine Steigerung der Empfindlichkeit der Geschmacksorgane für Kochsalz registriert wurde⁴.

In den angeführten Beispielen ist der Zusammenhang zwischen dem Tierversuch mit den Erfahrungen der Humanphysiologie und -medizin evident. Zur Ergänzung sei noch erwähnt, daß die spontane Vermehrung der Kochsalzaufnahme bei Insuffizienz der Nebennierenrinde auch beim Menschen zu beobachten ist. So wurde vor ein paar Jahren in eine Klinik ein Kind eingewiesen, das einen unersättlichen Hang nach Kochsalz bekundete. Im Spital wurde der exzessive Kochsalzverbrauch unterbunden, worauf das Kind

¹ D. W. WOOLLEY, J. biol. Chem. 162, 179 (1946).

² Persönliche Mitteilung.

³ T. B. OSBORNE und L. B. MENDEL, J. biol. Chem. 35, 19 (1918).

⁴ C. P. RICHTER, "Physiological psychology", Ann. Rev. Physiol. 4, 561 (1942).

¹ C. P. RICHTER und J. R. BIRMINGHAM, Am. J. Physiol. 138, 71 (1942).

² L. P. DUGAL, C. P. LEBLOND und M. THÉRIEN, Canad. J. Res. 23, E 244 (1945).

³ C. P. RICHTER, E. C. R. SCHMIDT und P. D. MALONE, Johns Hopkins Hosp. Bull. 76, 192 (1943).

⁴ C. P. RICHTER, l. c.

in kurzer Zeit starb. Die Sektion ergab eine Zerstörung der Nebennierenrinde durch einen Tumor¹.

Optimale Ernährung und Leistungsfähigkeit des Menschen

So wertvoll und notwendig die Tierexperimente für die Humanphysiologie sind, so wenig können wir für die entscheidenden Messungen auf den Menschen als Objekt unserer Analyse verzichten. Man ist daher gerade in der Ernährungsforschung immer mehr dazu übergegangen, an größeren Gruppen von Versuchspersonen die optimale Zufuhr irgendeines Nahrungsbestandteiles für die Erzielung bestimmter Leistungen zu ermitteln.

Als Beispiel für viele andere sei folgendes Experiment skizziert, das in Minneapolis durchgeführt wurde². Alle Versuchspersonen wurden während dreier Monate mit einer reichlichen und günstig zusammengesetzten Kost ernährt, in der nur die Vitamin-B₁-Menge variiert wurde. Die einen erhielten nur 0,23 mg Aneurin pro 1000 Kalorien, die anderen das Vielfache davon. Die «conscientious objectors», die sich freiwillig zur Verfügung gestellt hatten, wurden 13 verschiedenen Prüfungen unter streng standardisierten Bedingungen unterworfen, in denen die Ausdauer bei schweren körperlichen Anstrengungen, Geschicklichkeit, Muskelkraft, Reaktions- und Konzentrationsfähigkeit und die Milch- und Brenztraubensäure des Blutes gemessen wurden. In 12 Tests fand sich kein Unterschied zwischen beiden Gruppen. Hingegen war der Brenztraubensäuregehalt des Blutes bei denjenigen wenig erhöht, die die kleinere B₁-Dosis erhielten, was erkennen läßt, daß die angegebene Menge nicht ganz optimal ist, obwohl sie keine Herabsetzung der Leistungsfähigkeit zur Folge hatte. Es ist natürlich auch nicht ausgeschlossen, daß mit anderen Methoden doch noch eine Verminderung einzelner körperlicher Funktionen gefunden wird, wie sie von andern Forschergruppen behauptet wird. Ferner ist bei allen diesen Experimenten der Einfluß der verabreichten Kost auf die Darmflora nicht berücksichtigt worden. Trotz dieser Einwände besteht die sichere Hoffnung, auf diesem Wege wichtige Beiträge zur Frage des Nahrungsoptimums zu erhalten. So neigt man gegenwärtig in den USA. unter dem Eindruck der geschilderten Ergebnisse dazu, einzelne der als optimal geltenden Vitamindosen als zu hoch zu betrachten.

«Überoptimale» Ernährung

Bisher wurde hier ausschließlich der Bereich zwischen Minimum und Optimum behandelt. Als letztes soll noch die Frage diskutiert werden, wie sich Mensch

und Tier gegenüber einer Steigerung der Nahrungs- oder Nährstoffzufuhr über das Optimum hinaus verhalten.

Es sind zahlreiche Beispiele für das leichte Angehen von Infektionen bei Vitaminmangelzuständen bekannt. Aus dieser Erfahrung heraus wurde das Vitamin A seinerzeit als das antiinfektiöse Vitamin bezeichnet. Es werden nun immer mehr Fälle veröffentlicht, bei denen auch eine Überdosierung der Vitamine zu einer stärkern Anfälligkeit gegen Krankheitserreger führt. Eine der in dieser Hinsicht am besten untersuchten Infektionen ist die murine Poliomyelitis, bei welcher bewiesen wurde, daß sowohl die suboptimale wie die überoptimale Versorgung von Mäusen und Ratten mit Vitamin B₁ den Ausbruch und die Schwere der Krankheit begünstigt^{1, 2}.

Auch mit Aminosäuren können mit überoptimalen Mengen ungünstige Wirkungen erzielt werden, wobei die Spanne zwischen beiden Dosierungen oft überraschend klein ist. Wenn es sich um essentielle handelt, so kann das Wachstum der Versuchstiere durch die zugeführte Menge der betreffenden Aminosäure reguliert werden. Wenn die Dosis, die eine optimale Gewichtszunahme ermöglicht, nur um wenig überschritten wird, dann schlägt die Wachstumsförderung in eine Hemmung um, wie das kürzlich für das Methionin bewiesen wurde³.

Wir könnten bei der Ratte den Eiweißgehalt der Nahrung innerhalb sehr weiter Grenzen variieren, ohne daß es zu auffälligen Erscheinungen käme. Halten wir aber den Eiweißgehalt niedrig und steigern wir die Zufuhr einer einzelnen Aminosäure, so treten schwere pathologische Erscheinungen auf. So konnte etwa gezeigt werden, daß ein Zusatz von 1% Tyrosin zum Futter bei der jungen Ratte eine schwere Krankheit erzeugt, der das Tier innerhalb weniger Wochen erliegt. Als Symptome finden wir Entzündung und Vaskularisation der Hornhaut, Gewichtsabnahme, Haarausfall und Infektionen der Haut an bestimmten Prädispositionsstellen⁴.

Von einer Forschergruppe der School of Nutrition der Cornell University wurden eigenartige Resultate mit Versuchen erhalten, die in dieses Gebiet hineingehören. Es wurden Ratten mit einer hochwertigen, eiweißreichen Kost unter starker Reduktion der Kalorien gefüttert. Diese Ernährungsweise bewirkt eine ganz erhebliche Steigerung des Lebensalters, und die Wachstumsenergie bleibt ungewöhnlich lang erhalten. In einem Alter, das die Tiere bei gewöhnlicher Fütterung bei weitem nicht erreicht haben würden, be-

¹ C. FOSTER, J. H. JONES, W. HENLE und F. DORFMAN, J. exp. Med. 79, 221 (1944); 80, 257 (1944).

² A. F. RASMUSSEN jr., H. A. WAISMAN, C. A. ELVEHJEM und P. F. CLARK, J. Infectious Diseases 74, 41 (1944), zitiert nach H. A. WAISMAN, H. C. LICHSTEIN, C. A. ELVEHJEM und P. F. CLARK, Arch. Biochem. 8, 203 (1945).

³ W. H. RIESEN, B. S. SCHWEIGERT und C. A. ELVEHJEM, Arch. Biochem. 10, 387 (1946).

⁴ W. SCHWEIZER und E. A. ZELLER, Exper. 2, 30 (1946).

¹ C. P. RICHTER, l. c.

² A. KEYS, A. F. HENSCHEL, O. MICKELSEN und J. M. BROZEK, J. Nutrit. 26, 399 (1943).

ginnen sie wieder zu wachsen, wenn die Nahrungsmengen wieder ansteigen¹.

Als weitere Folge der «Retardierung» der Ratten traten weniger Infektionen und seltener bösartige Geschwülste auf. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch A. TANNENBAUM und H. R. RUSCH². Es wurden beispielsweise Mäuse täglich mit ultravioletttem Licht bestrahlt. Eine Gruppe von Tieren wurde auf eine kalorien- und fettreiche Kost gesetzt, eine zweite auf eine fettarme, deren Kaloriengehalt zwei Drittel der ersten betrug. Im Verlauf von 9 Monaten erkrankten von der ersten Gruppe unter der Einwirkung der Bestrahlung 87%, von der zweiten, knapp ernährten nur 7 an Ohrgeschwülsten³.

Es scheint somit auch für die Entwicklung von Geschwülsten ein Nahrungsoptimum zu geben. Die zur Heteroplasie neigenden Zellen brauchen für den Aufbau der rasch wachsenden Tumore große Mengen von Nährstoffen. Sind diese im Überschuß vorhanden, so reichen sie für die normalen *und* pathologisch veränderten Zellen aus, sind sie aber knapp, so scheinen die Körper- vor den Geschwulstzellen den Vorrang zu haben. Die gleiche Konkurrenz um die Nährstoffe scheint auch dann einzutreten, wenn diese nicht durch Futterbeschränkung, sondern durch erzwungene Arbeitsleistung herabgesetzt werden. Auch in diesen Fällen nimmt die Zahl der manifest werdenden Tumore ab.

Neben der Kalorienzufuhr sind es auch einzelne Nahrungsbestandteile, die das Wachstum der Geschwülste regulieren. So wurde nachgewiesen, daß sowohl die Über- wie Unterdosierung von Vitaminen zur Hemmung des Jensen-Sarkoms der Ratte führt, während bei den in üblicher Weise ernährten Tieren die implantierten Sarkome progredient weiterwuchsen⁴.

Aus dem Material amerikanischer Versicherungsgesellschaften ist eine erhöhte Tumoranfälligkeit für über- gegenüber normalgewichtigen Menschen errechnet worden⁵. Dieses und viele andere Ergebnisse und Überlegungen weisen darauf hin, daß die ge-

schilderte Arbeitsrichtung auch für die Humanmedizin von Bedeutung werden wird¹.

Schlußbemerkung

Der Begriff des «Optimums» übt seit seiner Einführung in die «Philosophie der Ernährung»² einen großen und ständig wachsenden Einfluß auf die Ernährungsphysiologie und deren Anwendung auf die praktischen Ernährungsfragen aus. Es ist deshalb notwendig, sich immer wieder mit dieser Bezeichnung kritisch auseinanderzusetzen. Die Definierung der optimalen Menge und Zusammensetzung der Kost ist heute erst in wenigen Fällen und nur bei einfachsten Ernährungs- und Umweltsverhältnissen annähernd möglich. Sie ist nicht nur ein experimentelles, sondern auch ein weltanschauliches und soziales Problem. Das «Optimum» enthält somit Komponenten, die über den naturwissenschaftlichen Bereich hinausgehen. Dieser Sachlage ist E. V. McCOLLUM sich schon bei der Einführung des Begriffs bewußt gewesen, wie seine eben erwähnte Formulierung beweist.

Résumé

La notion d'«alimentation optimale», préconisée par MACCOLLUM, est soumise à une critique au cours de laquelle l'auteur montre les difficultés qui se présentent lorsque l'on veut préciser cette notion. Il relève le rôle encore peu clair que joue la flore intestinale pour la synthèse de substances essentielles à l'alimentation de l'homme. La quantité optimale nécessaire n'est en matière d'alimentation pas une valeur stable, car elle dépend de la situation générale du métabolisme, ainsi que le prouvent certains exemples de la physiologie des vitamines B.

Une méthode particulièrement adéquate, spécifique pour reconnaître une situation optimale de l'alimentation, est donnée dans la méthode d'autosélection («self selection»), plus spécialement sous la forme développée par C. P. RICHTER. On peut trouver bien des analogies entre les résultats expérimentaux et certains faits connus de l'alimentation humaine. En ce qui concerne le régime optimal pour l'homme, seules les expériences sur l'homme sont déterminantes, comme elles ont été entreprises aux Etats-Unis au cours de la dernière guerre chez des volontaires.

Les recherches expérimentales sur l'effet que les vitamines et d'autres substances alimentaires déterminent sur le développement des infections et des tumeurs malignes montrent qu'au régime alimentaire suboptimal et optimal s'oppose le régime superoptimal.

¹ C. M. McCAY, F. M. CROWELL und L. A. MAYNARD, J. Nutrit. 10, 63 (1935). — C. M. McCAY, G. SPERLING und L. L. BARNES, Arch. Biochem. 2, 469 (1943).

² Zusammenfassung bei V. R. POTTER, Science 101, 105 (1945).

³ H. P. RUSCH, B. E. KLINE und C. A. BAUMANN, Cancer Res. 5, 431 (1945).

⁴ E. A. ZELLER, Verh. Schweiz. Physiol. 13, 34 (1938).

⁵ A. TANNENBAUM, Arch. Path. 30, 509 (1940).

¹ V. R. POTTER, l. c.

² E. V. McCOLLUM, l. c.

Essai d'interprétation des résultats obtenus récemment chez les Vertébrés sur l'intersexualité hormonale

Par ETIENNE WOLFF¹, Strasbourg

I. – *Les faits*

Depuis les travaux de LILLIE sur les génisses intersexuées connues sous le nom de «free-martin», deux catégories de recherches ont permis d'obtenir expérimentalement des intersexués dans les différentes classes de Vertébrés: a) des recherches sur la parabiose expérimentale des embryons, dont les free-martins sont le modèle naturel; b) des expériences d'injections d'hormones sexuelles aux embryons.

¹⁰ Les recherches sur la parabiose expérimentale ont été poursuivies avec succès sur les embryons de Batraciens par BURNS, HUMPHREY, WITSCHI et leurs collaborateurs depuis 1925. Elles ont démontré que dans les couples hétérosexués une hormone passe de l'un à l'autre composant; elle agit sur la différenciation primaire des sexes, elle contrôle l'évolution mâle ou femelle des ébauches des gonades et des voies génitales. En particulier, une substance émise par les gonades du composant mâle empêche la différenciation du cortex ovarien du partenaire femelle et stimule la différenciation de la médullaire testiculaire.

²⁰ Les expériences d'injections d'hormones sexuelles pures cristallisées aux embryons conduisent à des résultats analogues. J'ai montré², dans une série de recherches entreprises depuis 1935, que l'injection d'une hormone femelle, telle que l'œstradiol, aux embryons mâles de poulet, les transforme infailliblement en intersexués. Si la dose est suffisante, l'inversion sexuelle paraît totale au moment de l'éclosion: les gonades et les voies génitales sont de type femelle. L'injection d'une hormone mâle, telle la testostérone, à des embryons femelles, a une action inhibitrice sur les voies génitales femelles: elle empêche le développement de l'oviducte et stimule les canaux de Wolff. Ces résultats, corroborés par V. DANTCHAKOFF (1935 à 1940)³ et WILLIER (1935–1938)⁴ pour le groupe des Oiseaux, ont été étendus par de nombreux auteurs à toutes les classes de Vertébrés, en particulier aux Batraciens et aux Mammifères. Chez les uns, l'inversion est complète, chez les autres, on n'a encore obtenu que l'intersexualité du tractus génital.

¹ Laboratoire de zoologie et d'embryologie expérimentale de la Faculté des sciences de Strasbourg.

² ET. WOLFF et A. GINGLINGER, C. r. Acad. Sci. 200, 2118 (1935); Arch. d'Anat. d'Hist. et d'Emb. 20, 219–278 (1935). – ET. WOLFF, C. r. Soc. Biol. 124, 367 (1937).

³ V. DANTCHAKOFF, C. r. Acad. Sci. 200, 1983 (1935); C. r. Soc. Biol. 122, 1307 (1936); Biol. Zbl. 56, 605–629 (1936); Aufbau des Geschlechts. G. Fischer, Jena 1941.

⁴ B. H. WILLIER, T. F. GALLAGHER et F. C. KOCH, Proc. nat. Acad. Sci. 21, 625–631 (1935); Physiol. Zool. 10, No. 1 (1937).

II. – *Les théories*

Deux types d'explications ont été proposés pour rendre compte de ces résultats: les unes peuvent être qualifiées de dualistes, parce qu'elles font intervenir dans la morphogénèse sexuelle deux catégories distinctes d'hormones; les autres n'envisagent qu'une seule catégorie d'hormones sexuelles et peuvent être qualifiées de monistes.

¹⁰ A la suite des expériences de parabiose et de greffes effectuées sur les Batraciens, certains auteurs, en particulier GOLDSCHMIDT et WITSCHI, ont pensé que les hormones de la différenciation primaire des sexes n'ont rien de commun avec les hormones sexuelles proprement dites; celles-ci n'auraient pour rôle que de contrôler les caractères sexuels secondaires. Leur argument principal était d'ordre théorique: comment des hormones qui sont sécrétées par des glandes génitales déjà différenciées pourraient-elles influencer sur cette différenciation même? Ces auteurs concluent à l'existence de substances morphogènes de la différenciation sexuelle, ayant la valeur d'organismes embryonnaires «cortexine+ et cortexine–», «médullarine+ et médullarine–», les unes stimulantes (substances+), les autres inhibitrices (substances–) des différenciations de sexe opposé¹. Ces substances seraient encore inconnues.

²⁰ La théorie moniste a pris corps après la découverte de l'intersexualité sous l'action des hormones sexuelles cristallisées. Elle a été formulée pour la première fois par ETIENNE WOLFF et A. GINGLINGER en 1935. Du moment que ces hormones injectées à l'embryon produisent des phénomènes d'intersexualité de même ordre que les greffes de gonades embryonnaires ou les expériences de parabiose, qu'elles sont capables d'inverser le phénotype sexuel d'un individu, c'est qu'il n'y a pas de différences de nature entre les hormones sexuelles de l'adulte et les organisateurs de la différenciation sexuelle de l'embryon. Les unes et les autres appartiennent au groupe des stéroïdes. Cette conception ramène à l'unité la notion des hormones sexuelles. Celles-ci, agissant au début du développement, provoqueraient la différenciation des caractères sexuels primaires. Les mêmes hormones ou des substances du même groupe, agissant au moment de la puberté, déclenchent l'apparition des caractères sexuels secondaires. La première différenciation sexuelle serait

¹ E. WITSCHI, Cold Spring. Harb. Quant. Biol. 10, 145–151 (1942).

d'ordre chimique ou physiologique: l'élaboration des hormones sexuelles précéderait la différenciation morphologique de la glande. Cette conception, en accord avec tout ce que l'on sait du mode d'action des organisateurs embryonnaires, rejoint d'autre part la conception d'ANCEL et BOUIN¹, d'après laquelle le tissu interstitiel, élaborateur des hormones, a une origine distincte des autres éléments des gonades et se développe avant eux. Cette opinion, adoptée, à quelques nuances près, par V. DANTCHAKOFF et WILLIER, a rallié de nombreux suffrages, dès l'instant où elle a été formulée et au fur et à mesure que de nouveaux résultats venaient affirmer le pouvoir des hormones sexuelles sur la morphogénèse primaire de l'embryon.

Cependant, les partisans de la théorie dualiste, dont le représentant le plus qualifié est WITSCHI, continuent à défendre leur conception avec vigueur. Il devenait dès lors nécessaire d'examiner attentivement leurs nouveaux arguments et d'instituer des expériences pour en éprouver la valeur.

III. — Critique des théories dualistes

D'une façon générale, les partisans de la théorie dualiste mettent l'accent sur certains succès partiels des expériences utilisant les hormones sexuelles, sans voir que les expériences de greffes, sur lesquelles s'appuie leur théorie, conduisent à des succès de même ordre. La théorie dualiste a l'attrait du mystère, puisqu'elle postule l'existence de substances de nature protéique, encore totalement inconnues. Elle a le mérite d'avoir suscité de nouvelles recherches qui renforcent, à mon sens, la position de la théorie moniste.

¹⁰ Un des arguments mis en vedette par certains auteurs (GALLIEN, 1944², MOORE, 1944³) est que les injections d'hormones aux embryons ne produisent dans certains cas qu'une intersexualité partielle ou transitoire.

Le type des transformations incomplètes est fourni par les embryons de Mammifères. Aucun expérimentateur n'a encore réussi, en injectant des hormones aux embryons, à provoquer autre chose que des transformations du tractus génital. Les gonades demeurent inaltérées, contrairement à ce que l'on observe chez les free-martins naturels. Il est facile de répondre à cette objection, en faisant remarquer que toutes les expériences ont été faites à un stade tardif du développement, à un moment où les gonades sont en voie de différenciation. A un stade antérieur, l'injection d'hormones empêche la nidation ou la survie des embryons ou encore les hormones, si elles sont in-

jectées à la mère, ne traversent pas le placenta. On n'a pas encore trouvé la technique qui permette d'administrer des hormones à un stade précoce, sans troubler les conditions de la gestation.

Les oiseaux nous fournissent un exemple de transformations transitoires chez le mâle, de transformations incomplètes chez la femelle. J'ai montré¹ en 1936 que la gonade gauche d'un mâle génétique, transformée en ovaire ou en ovotestis sous l'influence de l'œstrone, redevient un testicule quelques mois après l'éclosion. D'autre part, l'hormone mâle, injectée aux embryons femelles, n'a pas d'action notable sur les gonades, mais seulement sur les canaux de Müller, qu'elle inhibe.

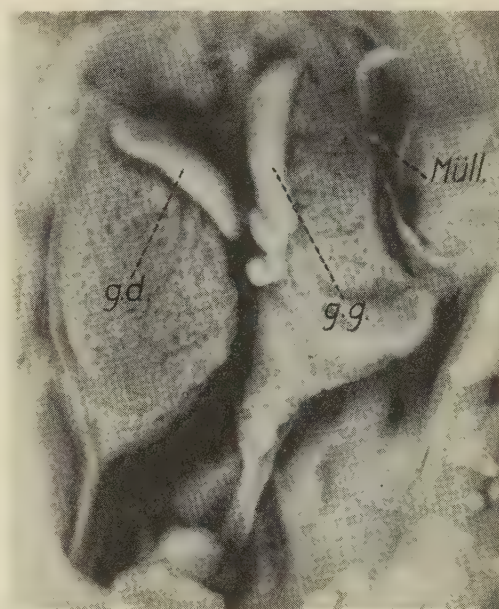


Fig. 1 a. Embryon mâle transformé en intersexué sous l'action d'une greffe d'ovaire embryonnaire.

g. d. gonade droite de nature testiculaire;
g. g. glande hermaphrodite;
Müll. tronçon d'oviducte.

Il était intéressant de savoir quels résultats donneraient les greffes de gonades à des embryons d'Oiseaux: les «substances morphogènes» de 1^{er} ordre, ou «inducteurs» de la différenciation sexuelle, postulées par WITSCHI, qui doivent se trouver dans les ébauches des gonades embryonnaires, donneraient-elles des résultats différents des expériences conduites avec les hormones sexuelles? C'est pour répondre à cette question que j'ai entrepris en 1946 des expériences de greffes de gonades embryonnaires chez l'embryon de poulet². Lorsque la gonade greffée est de sexe opposé à l'hôte, on observe des transformations intersexuées

¹ P. BOUIN et P. ANCEL, C. r. Soc. Biol. 55, 1682 (1903).

² L. GALLIEN, Bull. Biol. 78, Fasc. 3-4 (1944).

³ C. MOORE, Physiol. Zoöl. 14, No. 1, 1-43 (1941); Am. Nat. 78, 97-130 (1944).

¹ ET. WOLFF, Arch. d'Anat., d'Hist., d'Embr. 23, 1-28 (1936).

² ET. WOLFF, C. r. Acad. Sci. 223, 212-214 (1946); C. r. Soc. Biol. 140, 602-603 (1946); Arch. d'Anat. microsc. et de Morphol. exp. 38, 69-90 (1947).

qui sont superposables à celles qu'on obtient avec les hormones sexuelles: transformation de la gonade mâle en ovotestis sous l'influence d'un greffon ovarien (fig. 1); pas de modifications des gonades femelles sous l'action d'un greffon testiculaire, mais inhibition des voies génitales femelles (canaux de Müller) (fig. 2). Dans ces expériences, j'ai observé certains cas de très faible intersexualité des gonades mâles, qui ne manifestent qu'une transformation labile, le cortex régressant très rapidement après un début de développe-

cet auteur a apporté la démonstration éclatante que la masculinisation des gonades femelles est stable et définitive¹.

WITSCHI (1942)² a appelé l'attention sur le fait que les ébauches pronéphrétiques et mésonéphrétiques du tractus génital des Batraciens (canal de Wolff et connexions uro-génitales) ne sont sensibles que tardivement à l'action des hormones sexuelles et seulement vers le moment de la métamorphose. Donc la différenciation même de ces conduits ne serait pas sous



Fig. 1b. Embryon mâle de même âge.

c. W. canaux de Wolff;
test. testicules;
ur. urètres.

ment. Dans ces cas, l'intersexualité est beaucoup plus fugace encore que dans mes expériences antérieures sur les hormones sexuelles (fig. 3). J'ai tenté de reproduire alors avec les hormones sexuelles ces transformations fugaces. En collaboration avec EMILIENNE WOLFF¹, j'ai montré qu'on peut obtenir ces phénomènes soit à l'aide de très faibles doses d'hormones administrées au 5^e jour de l'incubation (résultat inédit), soit à l'aide de fortes doses administrées tardivement (9^e au 11^e jour). Ainsi, les résultats de greffes embryonnaires, après avoir confirmé les résultats des injections d'hormones, ont été confirmés à leur tour par de nouvelles expériences sur les hormones sexuelles.

Chez les Batraciens, si la féminisation des gonades mâles par l'hormone femelle s'est révélée instable et temporaire, d'après les travaux de GALLIEN (1944),



Fig. 2a. Embryon femelle transformé en intersexué sous l'action d'une greffe de testicule embryonnaire. Noter l'absence complète d'oviducte, en comparaison de l'embryon femelle normal de la fig. 2b.

c. W. canaux de Wolff;
g. d. gonade droite rudimentaire;
Gr. ♂ greffon testiculaire;
Ov. Ovaire;
ur. urètres;
ov. oviducte.

la dépendance des hormones génitales. L'argument ne me paraît pas convaincant, car il s'agit de formations présentes et fonctionnelles dans les deux sexes chez les Batraciens et qui n'acquièrent que tardivement la valeur d'organes sexués. A ce sujet, il faut dissiper une équivoque qui pèse sur tout le débat.

La différenciation primaire des sexes, que nous attribuons aux hormones génitales, est postérieure à l'édification des ébauches des gonades et des voies génitales. Celles-ci existent dans tout individu mâle ou femelle, qui possède l'assortiment complet des ébauches des deux sexes. On peut considérer cet ensemble comme indifférent ou asexué avant l'action des hormones sexuelles. Si l'on veut dire que celles-ci ne participent

¹ ET. WOLFF et EM. WOLFF, C. r. Soc. Biol., 141, séance du 18 janvier (1947).

¹ L. GALLIEN, Bull. Biol. 78, Fasc. 3-4 (1944).

² E. WITSCHI, Cold Spring Harb. Quart. Biol. 10, 145-151 (1942).

pas à la première différenciation de l'assortiment d'ébauches bipotentielles, nous partageons entièrement cette opinion (ETIENNE WOLFF, 1946²). Là où nous prétendons qu'elles interviennent, c'est au moment où l'un des assortiments est stimulé, et où l'autre est inhibé, c'est-à-dire au moment où s'esquisse la différenciation des sexes. On est donc mal fondé à invoquer l'insensibilité d'un de ces caractères aux hormones sexuelles, à un stade où ce caractère est encore indifférent dans l'évolution normale.

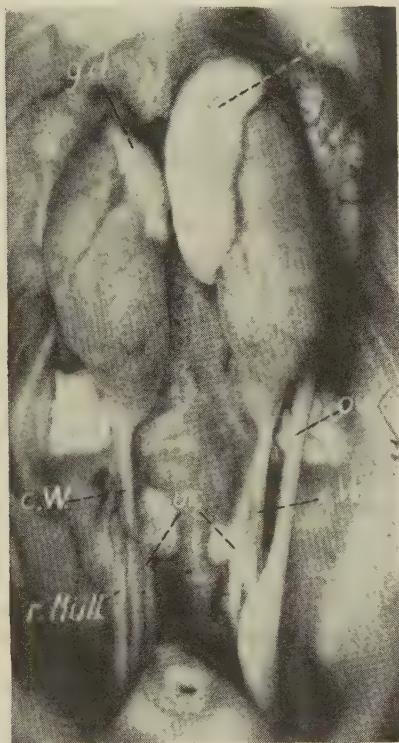


Fig. 2b. Embryon femelle normal de même âge que l'intersexué de la fig. 2a. Même légende que pour la fig. 2a.

2° Les actions paradoxales de certains composés hormonaux. On a souvent appelé l'attention sur le fait que des substances hormonales pures ont parfois un effet inverse de celui qu'on attend. Ou bien une hormone réputée mâle a simultanément un effet masculinisant et un effet féminisant sur les caractères sexuels primaires, ou bien elle a, dans certaines conditions, une action purement féminisante que les auteurs appellent effet paradoxal.

Une enquête étendue, commencée en 1936 et que je poursuis actuellement avec EM. WOLFF et STRUDEL, montre que de très nombreux composés du groupe mâle ont une double action sur les embryons de poulets, ils féminisent les mâles et masculinisent les femelles, de telle sorte que l'on obtient dans les deux

cas un type moyen d'intersexués. Seul, le propionate de testostérone a une action purement masculinisante, mais relativement faible. Il ne provoque le plus souvent qu'une inhibition partielle des canaux de Müller, non la suppression totale de l'oviducte, que j'ai obtenue par la méthode des greffes embryonnaires.

D'autre part, PADOA (1936)¹ a montré que différentes préparations d'hormone femelle ont une action paradoxale sur les gonades des Batraciens anoures: elles transforment les gonades femelles en testicules ou en ovotestis vers le moment de la métamorphose. GALLIEN (1937-1941)², reprenant systématiquement les expériences de PADOA, a démontré que l'œstrone, en solution aqueuse, a effectivement une action masculinisante, mais injectée en solution huileuse, elle a un effet féminisant. Ainsi la nature du solvant ou

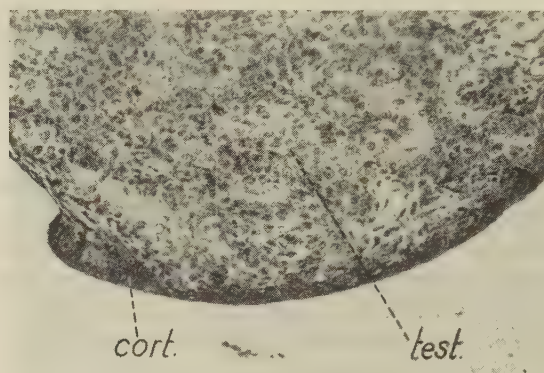


Fig. 3. Forme d'intersexualité faible et instable, obtenue chez un mâle sous l'influence d'un greffon ovarien. Présence d'un cortex mince et en voie de régression au 15e jour d'incubation.
cort. cortex; test. tubes testiculaires.

le dosage de l'hormone pourrait déterminer dans l'organisme une marge de réactions allant de la masculinisation à la féminisation. Telle est aussi l'action du propionate de testostérone sur les conduits génitaux des jeunes Marsupiaux. Cette substance, employée à forte dose, a une double action, masculinisante et féminisante. Employée à faible dose, elle n'a qu'une action masculinisante (BURNS, 1945³). Est-ce à dire que ces substances ne correspondent pas aux véritables hormones embryonnaires de la différenciation sexuelle? Et que celles-ci n'appartiennent pas au groupe des stéroïdes? Il y a là deux problèmes bien distincts et la réponse au premier n'entraîne pas nécessairement la solution du second.

On ne discute plus sur le fait que les hormones responsables du développement des caractères sexuels secondaires sont des stéroïdes. Cependant, certaines de ces substances ont aussi des effets paradoxaux, et d'autre part elles n'ont pas toujours l'effet total d'une

¹ E. PADOA, Mon. Zool. Ital. 47, No. 10 (1935).

² L. GALLIEN, Bull. Biol. 72, Fasc. 3 (1938); 75, Fasc. 4 (1941).

³ R. K. BURNS, J. exp. Zool. 100, 119-140 (1945).

² ET. WOLFF, Les changements de sexe, 1 vol. in-16, Gallimard, Paris 1946.

préparation naturelle. Mises à part des substances se rattachant au groupe mâle, qui ont un caractère ambosexuel marqué et que l'on peut considérer comme hormones intermédiaires (exemple: l'androstènediol, la transdèhydroandrostérone), les composés considérés comme des hormones mâles authentiques ont aussi des effets ambosexuels: ainsi la testostérone, d'après DEANESLY et PARKES¹, l'androstérone, d'après ETIENNE WOLFF et A. GINGLINGER², si elles sont injectées à doses élevées, déclenchent l'œstrus chez les souris impubères ou castrées, test caractéristique des hormones femelles. TSCHOPP (1935)³ a montré que les hormones œstrogènes ont de leur côté des effets stimulateurs sur certains caractères sexuels secondaires de l'organisme mâle.

Dans le déterminisme des caractères sexuels secondaires aussi bien que dans la différenciation des caractères sexuels primaires, il faut tenir compte de plusieurs facteurs: la nature de la substance employée, les transformations qu'elle peut subir dans l'organisme, les combinaisons auxquelles elle est associée, la dose administrée. De nombreux auteurs ont montré que certaines substances, inertes par elles-mêmes, renforcent le pouvoir morphogène des hormones sexuelles, que certains esters (propionates, benzoates) sont plus actifs que la substance brute, que certains solvants augmentent encore cette activité. Il en est de même dans l'organisme. Il ne fait aucun doute que les hormones sexuelles se trouvent associées à l'état naturel à des substances organiques qui sont leur support ou leur solvant. Il ne viendrait pourtant à l'idée de personne de contester pour cette raison la nature hormonale des composés stériques qui ont été extraits de l'organisme ou préparés à leur image. Ils sont, sinon l'hormone totale, du moins le groupement actif de l'hormone.

S'agit-il de la diversité des substances hormonales? Nous nous servons de composés qui ont été extraits des glandes génitales ou des urines des Mammifères, ou qui ont été préparés synthétiquement suivant les modèles ainsi obtenus. Mais rien ne nous permet d'affirmer que l'un de ces composés est l'hormone totale des Mammifères, ni qu'il correspond à l'une des hormones naturelles des Batraciens, des Oiseaux, des Poissons. On connaît déjà une gamme très étendue de ces substances et l'on ne peut savoir *a priori* si plusieurs d'entre elles ne sont pas associées dans l'organisme pour former l'hormone naturelle, on ignore dans quelles proportions et dans quelles combinaisons elles interviennent.

Il est très remarquable de constater la puissance des actions morphogènes de ces substances pures sur les caractères sexuels primaires, même si ces actions sont

quelquefois paradoxales ou incomplètes. La constitution chimique des hormones mâles est assez proche de celle des hormones femelles pour qu'il n'y ait pas lieu de s'étonner de ces aberrations. On peut penser que d'un groupe à l'autre, la constitution d'une hormone peut subir quelques modifications ou qu'une même substance peut intervenir dans des combinaisons différentes. Et ceci nous amène à poser le problème de la spécificité des substances morphogènes que nous étudierons au paragraphe suivant. Notons dès maintenant que, dans certaines expériences de parabiose entre deux espèces différentes, WITSCHI a obtenu des effets paradoxaux entre individus de même sexe, l'ovaire de l'un inhibant l'ovaire de l'autre. Ces effets paradoxaux ne sont donc pas le propre des hormones cristallisées, ils peuvent être provoqués par les prétendus inducteurs embryonnaires.

Quoi qu'il en soit, le fait qu'on peut obtenir avec l'une ou l'autre substance du groupe des stérols les mêmes effets que l'on observe dans la nature sous l'action des «substances morphogènes primaires» est extrêmement significatif: ce sont dans les deux cas des actions stimulatrices ou inhibitrices, ce sont dans les deux cas les mêmes effecteurs.

VANNINI (1946)¹ a poussé plus loin l'analyse de l'action de certains composés hormonaux dans le cas des Batraciens anoures. Il répond à l'objection suivante, formulée par WITSCHI: dans les expériences de parabiose des Amphibiens, l'inversion sexuelle est toujours réalisée par la suppression du «système inducteur dominant». Le développement de l'ébauche de sexe opposé s'effectue alors spontanément. C'est donc la substance-, cortexine- ou médullarine, qui est active dans ce cas. Or les expériences effectuées avec les hormones sexuelles montrent surtout des actions stimulatrices. WITSCHI interprète ces résultats comme une stimulation précoce des inducteurs+, médullarine+ ou cortexine+.

VANNINI montre que certaines substances hormonales provoquent l'inversion sexuelle par l'un ou l'autre procédé: soit par inhibition, soit par stimulation. Ainsi, chez *Rana agilis*, l'œstradiol féminise l'ébauche gonadique par *stimulation* du cortex. La désoxycorticostérone produit le même effet par *inhibition* de la médullaire. De même la testostérone masculinise la gonade par *stimulation* directe de la médullaire tandis que la progestérone donne le même résultat par *inhibition* du cortex. Ainsi, l'action de ces substances est remarquablement similaire à celle qu'on attribue aux prétendus «réalisateurs» ou inducteurs sexuels. VANNINI en conclut que les substances morphogènes primaires sont des stérols comme les hormones sexuelles et les hormones cortico-surrénales de l'adulte.

(A suivre)

¹ R. DEANESLY et A. S. PARKES, Brit. med. J. 1, 257 (1936).

² E. T. WOLFF et A. GINGLINGER, C. r. Soc. Biol. 121, 1476 (1936).

³ E. TSCHOPP, Nature 136, 258 (1946).

¹ E. VANNINI, Nature 157, 812 (1946).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Über optische Untersuchungen an Deckschichten auf Aluminium

Es ist bekannt, daß elektrolytisch erzeugte Oxydschichten auf Aluminium doppelbrechend sein können. Die Doppelbrechung verschwindet beim Imbibieren mit passenden Flüssigkeiten; somit handelt es sich weder um Eigen- noch um Spannungsdoppelbrechung, sondern um Formdoppelbrechung¹, die in der dispersen Struktur der Schichten ihre Ursache hat. Im folgenden wird über die Abhängigkeit der Optik der Deckschicht von der kristallographischen Orientierung der metallischen Unterlage berichtet.

Experimentelles. Als Ausgangsmaterial dienten fast ausschließlich Einkristalle aus Reinstaluminium. An diesen wurden parallel einfach indizierten Netzebenen Flächen angeschliffen und in einer Mischung von Eisessig und konzentrierter Perchlorsäure elektrolytisch poliert, die sich für unsere Zwecke besser eignete als die von JACQUET² angegebene Lösung. Die auf der so vorbereiteten Kristalloberfläche erzeugten Deckschichten wurden darauf nach Anritzen der Ränder durch kurze anodische Behandlung im Glänzbad abgelöst³. Diese Methode der Schichtablösung verändert nach vergleichenden Versuchen die Eigenschaften der Deckschicht nicht, hat aber den Vorteil, daß sich der Aluminiumkristall zu weiteren Versuchen verwenden läßt, so daß auf ein und derselben Anschlifffläche sehr viele Schichten hergestellt werden können.

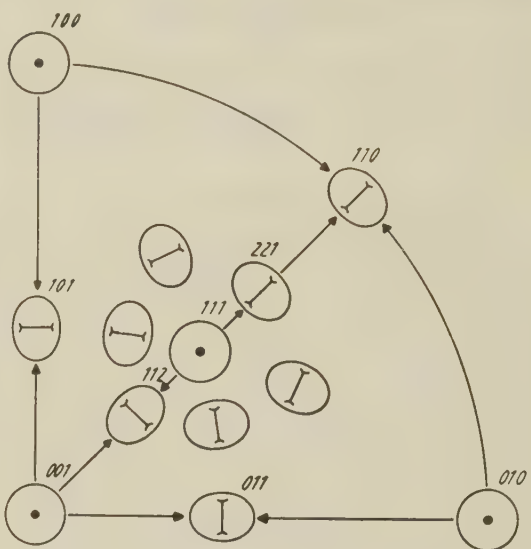
Schichten, die Formdoppelbrechung aufweisen, entstanden in folgenden Elektrolyten: Oxalsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure und phosphorige Säure, und zwar sowohl bei Gleichstrom- wie auch bei Wechselstrombehandlung.

Ergebnisse. Schichten auf Anschliffflächen parallel (100) und (111) des Aluminiumkristalls zeigen die Formdoppelbrechung einer optisch positiven einachsigen Indikatrix; die optische Achse steht senkrecht zu der Schicht. In Schichten auf Anschliffflächen beliebiger anderer Orientierung ist die Indikatrix optisch zweiachsig und ebenfalls optisch positiv, und die spitze Bisektrix steht senkrecht zu der Schicht. Die Größe des Achsenwinkels hängt stark von der Art des verwendeten Elektrolyten, weniger oder gar nicht dagegen von seiner Konzentration, von der Badspannung, von der Behandlungsdauer und somit der Schichtdicke ab. Die folgende Tabelle gilt für Schichten auf (110) des Aluminiums und 15° C Badtemperatur.

Elektrolyt	Badspannung (Gleichstrom)	Achsenwinkel (2 V)
0,1–1,0 m (COOH) ₂	24–72 V	45–50°
0,5–2,0 m H ₂ SO ₄	8–30 V	22–26°
0,5–2,0 m H ₃ PO ₄	24–72 V	22–26°
0,5–2,0 m H ₃ PO ₃	24–72 V	30–35°

¹ K. HUBER, Helv. chim. acta 28, 1416 (1945).
² P. A. JACQUET, C. r. 205, 1252 (1937).
³ Dasselbe Verfahren wurde kürzlich von P. LACOMBE und L. BEAUJARD, Metal treatment 12, 223 (1945/46) beschrieben.

Über die Orientierung der Achsenebene in der Deckschicht gibt die nachstehende Figur Aufschluß.



In der Figur sind einige Flächen am Aluminiumkristall in stereographischer Projektion aufgetragen. Für diese Flächen ist jeweils qualitativ die Optik der auf ihnen entstehenden Schichten angedeutet durch die Projektion der Indikatrix auf die Schichtfläche. Es bedeutet • optisch einachsig, Achse senkrecht stehend; I optisch zweiachsig, spitze Bisektrix senkrecht stehend; das eingeschriebene I gibt die Projektion der Achsenebene auf die Schichtfläche. Von den eingetragenen Flächen geben solche parallel zu (110) Deckschichten mit den höchsten Achsenwinkeln. Für zwei Zonen am Aluminiumkristall [100] und [110] ist die Veränderung des Achsenwinkels angedeutet: er nimmt in Richtung der Pfeile kontinuierlich zu.

Die Ergebnisse zeigen, daß neben der Wachstumsrichtung der Schicht die kristallographische Orientierung der Metallunterlage die Optik der Deckschicht bestimmt. Parallelen zur Kristalloptik drängen sich insofern auf, als Schichten auf Aluminiumflächen mit drei- und vierzähliger Symmetrie einachsig sind, entsprechend der Optik des tri- und tetragonalen Kristallsystems, während Schichten auf Aluminiumflächen mit niedrigerer Symmetrie zweiachsig sind, dem rhombischen und niedriger symmetrischen Kristallsystemen entsprechend.

Durch die engen Beziehungen zwischen der Metallunterlage und den optischen Eigenschaften der Deckschicht erscheint die polarisationsoptische Untersuchung der Deckschicht eine geeignete Methode zur Erforschung der Struktur des Metalles im weitesten Sinne.

K. HUBER und A. GAUGLER

Anorganisch-chemisches Institut der Universität Bern, den 22. November 1946.

Summary

The double refraction of oxide films on Al conditioned by an electrolytic treatment of the metal in oxalic acid, sulphuric acid and so on ("Eloxal"-layers) is due only to the disperse structure of the film ("Formdoppelbrechung"), since the substances the film consists of are optically isotropic.

The optical properties depend, excepting the formation conditions, in a very characteristic manner on the crystallographic orientation of the metallic surface.

Measurements on the Electrical Resistivity of Thin Nickel Films

Some months ago we published in *Nature*¹ a preliminary note in which we reported measurements on the electrical resistance of thin nickel films. These films were obtained by cathode discharge, and the experiment-

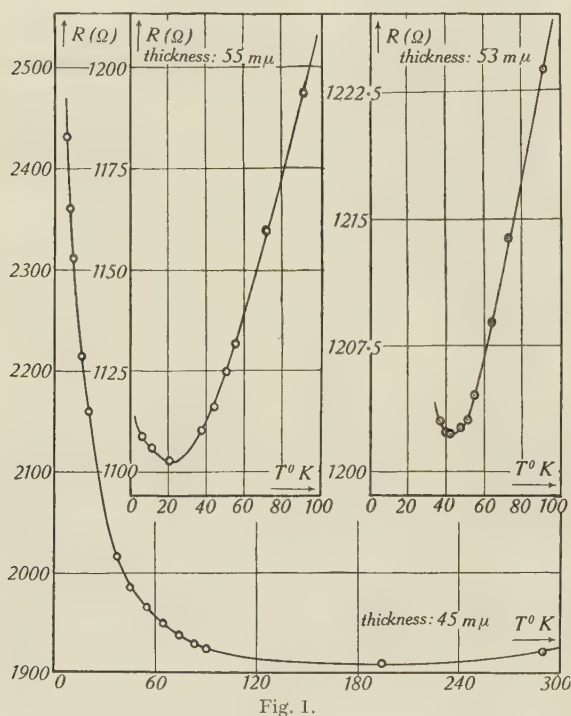


Fig. 1.

al technique for the production and the mounting of the films were published by us in *Physica*².

In our paper published in *Nature* we drew attention to some peculiar properties that those thin films possess. Below a certain thickness (about 40 mμ) the temperature coefficient for the electrical resistance was negative from low up to ordinary temperatures, and the films thicker than 40 mμ possessed a minimum (see Fig. 1) depending on their thickness. COLOMBANI³ has also found a negative temperature coefficient for a thickness less than 220 mμ. On the other hand DE HAAS and VAN DEN BERG⁴ published some years ago measurements of the electrical resistance of gold wires which show at

¹ A. VAN ITTERBEEK and L. DE GREVE, *Nature* 158, 100 (1946).

² A. VAN ITTERBEEK and L. DE GREVE, *Physica* 11, 78 (1944); 11, 465 (1946); 11, 470 (1946).

³ A. COLOMBANI, *Ann. Phys.* 19, 272 (1944).

⁴ W. J. DE HAAS and G. J. VAN DEN BERG, *Physica* 3, 440 (1936); 4, 663 (1937).

liquid helium temperatures a minimum of the same type as our nickel films. Recently SHALYT¹ reported measurements on bismuth wires and found a minimum in the resistance curve at 4° K. Discussing these different ex-

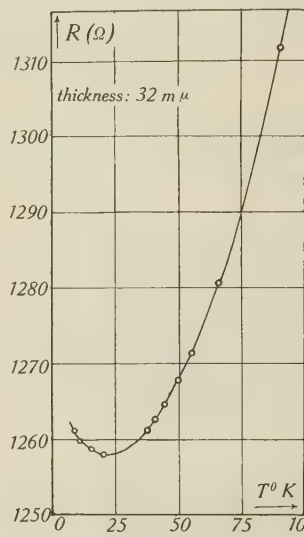


Fig. 2.

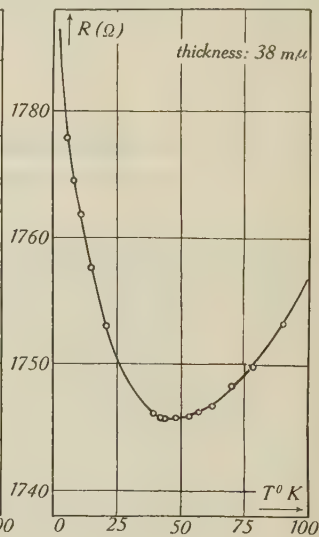


Fig. 3.

perimental results we were inclined to believe that the observed phenomena are produced by a size factor for the respective conductors.

Recently we made new measurements, and we were a little deceived by these. The place of the minimum for the resistance curve as a function of the

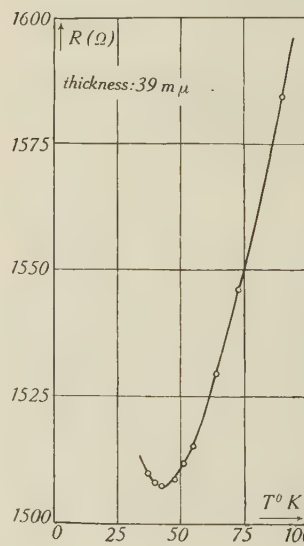


Fig. 4.

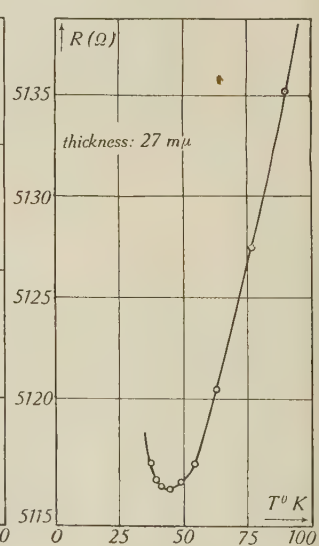


Fig. 5.

thickness seems not to be so well reproducible as we believed before. It depends strongly (see Figs. 2, 3, 4, and 5) on the experimental conditions of formation of the films. We observed further that when those films are heated the minimum is displaced to lower temperatures and finally disappears completely (Figs. 6a, 6b, and 6c).

¹ S. SHALYT, *J. Phys., Moscou*, 8, 315 (1944).

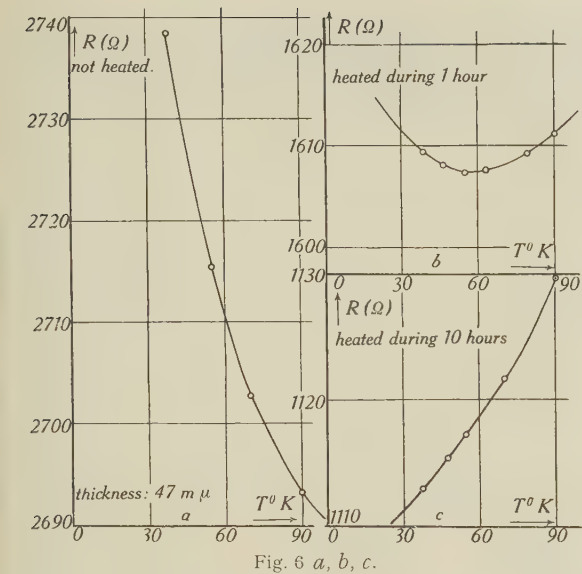


Fig. 6 a, b, c.

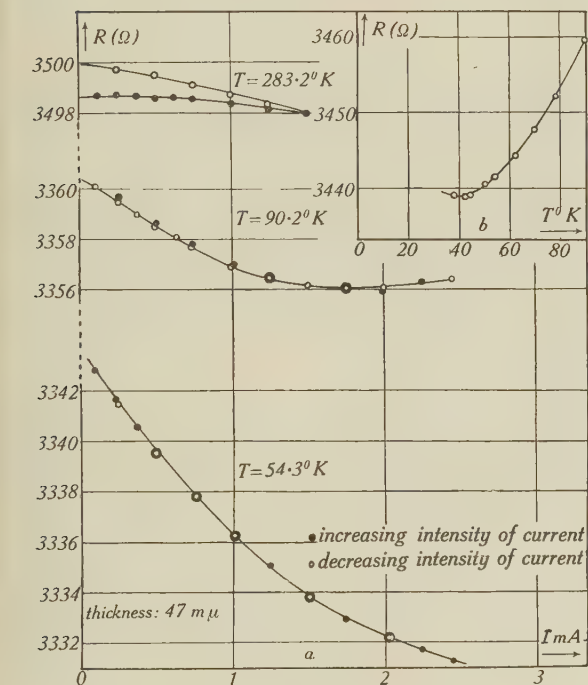


Fig. 7 a, b.

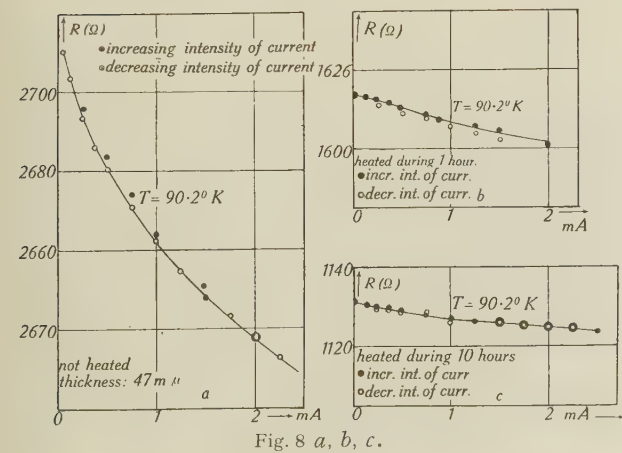


Fig. 8 a, b, c.

This is also confirmed by other experiments. For the not preheated films, the electrical resistance as a function of the current intensity deviates from Ohm's law (see Figs. 7a and 7b). But after the films have been heated up to about 150° C the curves change and finally agree with the classical equation.

As a general conclusion we are of the opinion that the electrical properties of these films depend strongly on the state of crystallization of the metal. It would therefore be interesting to follow the variation of the electrical properties and to determine simultaneously the electron diffraction patterns of the films.

Finally it is interesting to observe that the current density for these films is unexpectedly large. Thus for our films of 20 mμ and a breadth of 4 mm, and with a current of only 2 mA the current density is about 2500 A/cm².

A. VAN ITTERBEEK and L. DE GREVE¹

Centre d'Etude scientifique et technique du froid, Louvain (Belgique), May 2, 1947.

Résumé

Dans une publication antérieure, nous avons signalé que le coefficient de température de la résistance électrique des films en nickel était négatif en dessous d'une certaine épaisseur critique (40 mμ). Au-dessus de 40 mμ, la courbe «Résistance en fonction de la température» présentait un minimum aux basses températures. A la suite de nouvelles expériences, nous avons constaté que ce phénomène est accompagné d'une déviation de la loi d'Ohm: la résistance diminue quand le courant de mesure augmente. Nous avons pu conclure que ces deux particularités ne sont qu'indirectement provoquées par la minceur des films. La cause principale est leur état de cristallisation imparfaite. En effet, après avoir subi un échauffement à 150° C pendant plusieurs heures, le coefficient de température négatif change de signe (le minimum disparaît) et la loi d'Ohm est respectée.

¹ Research-fellow of the Belgian «Fonds National de la Recherche Scientifique».

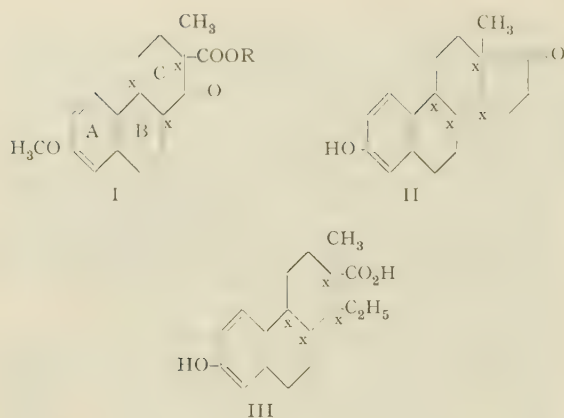
Über einheitliche Racemate des 1-Oxo-2-methyl-7-methoxy-octahydrophenanthren-2-carbonsäuremethylesters¹

Die 1-Oxo-2-methyl-7-methoxy-octahydrophenanthren-2-carbonsäureester (I) stellen wichtige Ausgangsstoffe zum Aufbau des Östrons (II) dar. R. ROBINSON und J. WALKER² erhielten bereits 1936 den Äthyl- und 6 Jahre später W. E. BACHMANN und Mitarbeiter³ den Methyl-ester in Form von Ölen. Offenbar lagen Gemische der Racemate vor, von denen wegen der 3 Asymmetriezentren vier möglich sind. Östron besitzt 4 Asymmetriezentren, was 16 optischen Isomeren oder 8 Racematen entspricht. Wahrscheinlich beruhen die bisherigen Fehlschläge, zum natürlichen Östron zu gelangen, auf dem verwendeten, sterisch uneinheitlichen Ausgangsmaterial.

¹ 63. Mitteilung «Über Steroide» (62. Mitt., siehe Exper. 3, 185 [1947]) sowie XIX. Arbeit «Über östrogene Carbonsäuren» (XVIII. siehe Helv. chim. Acta 30, 786 [1947]).

² R. ROBINSON und J. WALKER, J. chem. Soc. London 747 (1936).

³ W. E. BACHMANN und Mitarbeiter, J. Am. chem. Soc. 64, 974 (1942).



Wir fanden nun, daß man durch eine fraktionierte Trennung, insbesondere auf dem Wege der Kristallisation, aus dem Diastereomergemisch (I) 3 der 4 erwarteten Racemate isolieren kann. Sie zeigen folgende Eigenschaften¹:

- A Smp. 133–135° C, lange Prismen
- B Smp. 127–128° C, rhombische Platten
- C Smp. 87– 89° C, dicke Prismen

Eine vierte Fraktion vom Smp. 101–102° C, die in glänzenden Plättchen kristallisierte, erwies sich als dimorphe Form des Ketoesters A.

Diese einheitlichen Ketoester erlaubten uns, z. B. sterisch einheitliche racemische Doisyonsäuren vom Typus III zu gewinnen. Hierüber sowie über unsere Versuche zum Aufbau des Östrons und seiner Diastereomeren werden wir noch ausführlicher berichten¹.

G. ANNER, K. MIESCHER

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft
Basel, den 6. Mai 1947.

Summary

The racemic mixture of 1-oxo-2-methyl-7-methoxy-octahydrophenanthrene-2-carboxylic acid methyl esters has been separated into three crystalline racemates.

¹ Siehe auch Vortrag von K. MIESCHER an der Sitzung vom 30. April 1947 der Chemischen Gesellschaft Zürich und unsere sich im Druck befindende ausführliche Publikation (Helv. Chim. Acta 30 [1947]).

Über photogalvanische Erscheinungen bei organischen Redoxsystemen

In den zahlreichen Arbeiten, die seit den ersten diesbezüglichen Beobachtungen E. BECQUERELS (1839) über die Änderung der elektromotorischen Kraft elektrolitischer Zellen mit Metallelektroden bei Bestrahlung bekanntgeworden sind, herrscht bezüglich der Bezeichnungsweise der beobachteten Erscheinungen und Effekte keineswegs Einheitlichkeit. Benennungen wie Becquerel-Effekt I. und II. Art, Elektroden- und Volumeffekt, Photovoltaeffekt, photogalvanischer Effekt, Photopotentiale und photolytischer Effekt sind üblich¹, sie werden jedoch nicht konsequent angewandt. Wir schlagen deshalb, bei Berücksichtigung diesbezüglicher Einzelvorschläge verschiedener Autoren, für dieses For-

schungsgebiet folgende Systematik vor. Als *Sammelbegriff* für alle Änderungen elektromotorischer Kräfte von Zellen mit Elektrolytlösungen und (beliebig vorbehandelten) Metallelektroden bei Lichteinstrahlung: *Becquerel-Effekt*. Wird der Effekt nicht durch reversible chemische Veränderungen oder Gleichgewichtsverschiebungen verursacht, so ist die Bezeichnung *Photovoltaeffekt* zweckmäßig, während wir von einem *photogalvanischen Effekt* sprechen, wenn es erwiesen scheint, daß die Änderung der elektromotorischen Kraft durch Lichtreaktionen verursacht wird, an denen reversible Vorgänge maßgebend beteiligt sind. Bei beiden Arten des Becquerel-Effektes kann sich der Lichtvorgang in unmittelbarer Nähe einer der Metallelektroden abspielen, ja in der Grenzfläche Metall-Lösung, wobei es sich dann um einen *Elektrodeneffekt* handelt, oder aber, es geht die für den Effekt verantwortliche Lichtreaktion im Inneren der Elektrolytlösung vor sich und verursacht so einen *Volumeffekt*. Auf diese Weise sind also vier Arten des Becquerel-Effektes zu unterscheiden und es kann wohl festgestellt werden, daß für den photovoltaischen Elektrodeneffekt und den photogalvanischen Volumeffekt zahlreichere experimentell erforschbare Beispiele anzugeben sind als für die beiden anderen Arten des Effektes.

Wir haben in einer umfangreicheren Arbeit, deren Einzelheiten an anderer Stelle mitgeteilt werden, den photogalvanischen Volumeffekt an Lösungen von Ausbleichfarbstoffen (vorwiegend Thionin), bei Anwesenheit von Thiosinamin bzw. Diäthylthiosinamin als Reduktionsmittel¹, mit Platinableitungselektrode und Kalomelbezugselektrode, näher erforscht. Bei Bestrahlung wässriger Thioninlösungen ($1 \cdot 10^{-4}$ Mol/l), die $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/l eines der genannten Reduktionsmittel enthielten, mit dem unzerlegten Licht einer Projektionsglühlampe (500 W), wurden bei 25° C und in CO₂-Atmosphäre Änderungen des Einzelpotentials der Platinelektrode (Redoxelektrode) im Betrage von 243 mV (Thiosinamin, Bestrahlungsdauer 18 Minuten) und 384 mV (Diäthylthiosinamin, Bestrahlungsdauer 9 Minuten) beobachtet. Das Einzelpotential der Elektrode wird (unabhängig von ihrer Größe, Form und Belichtung) um die genannten Beträge *negativer*, wobei der Farbstoff gleichzeitig vollständig ausbleicht. Verminderung der Konzentration des Reduktionsmittels vermindert auch den Effekt und nach Abblendung des Lichtes wird das Einzelpotential wieder allmählich positiver. Die *Geschwindigkeit* der Potentialsänderung (Zeitableitung) während der Bestrahlung wird gut durch die Gleichung:

$$k = \frac{1}{t} \ln \left[e^{-\frac{nF}{RT} (E - E_0)} + 1 \right]$$

(k = Geschwindigkeitskonstante, t = Bestrahlungszeit, E_0 = Normalpotential des Thioninsystems, E = Einzelpotential der Elektrode zur Bestrahlungszeit t) wiedergegeben, die aus der Geschwindigkeitsgleichung für Reaktionen ersten Grades und der Nernstschen Gleichung für Redoxpotentiale abzuleiten ist. Die Geschwindigkeitskonstante und damit auch die Geschwindigkeit der Änderung des Elektrodenpotentials ist eine lineare Funktion der Lichtintensität. Werden statt Thionin andere Ausbleichfarbstoffe (Toluidinblau, Methylenblau, Phenosafranin, Neutralrot) benutzt, so werden um so kleinere photogalvanische Effekte be-

¹ Vgl. besonders CHR. WINTHER, Z. physikal. Chem. 131, 205 (1928). – E. RABINOWITSCH, J. chem. Physics 8, 551, 560 [1940]

¹ K. WEBER, Naturwiss. 23, 849 (1935); Z. physikal. Chem. (B). 15, 18 (1931); Radiologica 1, 223 (1937). – M. MUDROVČIĆ, Z. wissenschaftl. Photogr. 26, 171 (1928).

obachtet, je negativere Normalredoxpotentiale den betreffenden Farbstoffen zukommen. Auch die *Geschwindigkeiten* der Potentialänderungen unterliegen dieser Regel und die genannten Farbstoffe bilden so



Fig. 1. Thionin-Thiosinamin- CuSO_4 . 1 Zusatzfrei; 2 CuSO_4 $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/l; 3 $2 \cdot 10^{-4}$ Mol/l; 4 $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l; 5 $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/l; 6 $2 \cdot 10^{-3}$ Mol/l. E = Redoxpotential in Millivolt bezogen auf die Normalwasserstoffelektrode. t = Reaktionszeit in Minuten.

auch bezüglich des photogalvanischen Effektes eine «kinetische homologe Reihe»¹.

Zahlreiche Versuche über den Einfluß von Fremdstoffzusatz wurden durchgeführt. Eine wesentliche Änderung des Effektes bewirken vorwiegend anorganische

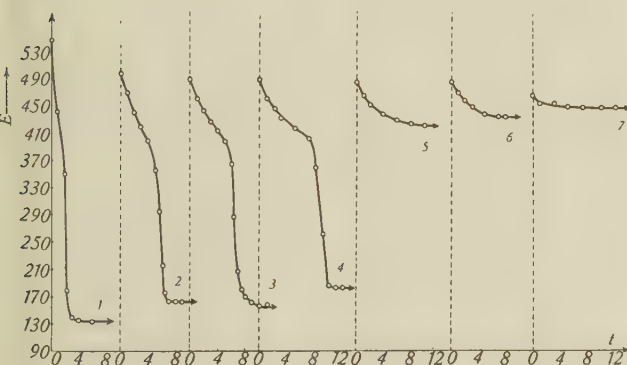


Fig. 2. Thionin-Diäthylthiosinamin-KJ. 1 Zusatzfrei; 2 KJ $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l; 3 $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/l; 4 $2 \cdot 10^{-3}$ Mol/l; 5 $2,5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l; 6 $3 \cdot 10^{-3}$ Mol/l; 7 $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/l.

und organische Oxydations- und Reduktionsmittel. Kleine Konzentrationen von Oxydationsmitteln ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, CuSO_4 , FeCl_3 u. a.) vergrößern den photogalvanischen Effekt, wobei Änderungen des Elektrodenpotentials bis zu 500 mV beobachtet wurden. Größere Konzentrationen derselben Zusatzstoffe bewirken jedoch eine Verminderung des Effektes und führen schließlich zu einer Stabilisierung des Elektrodenpotentials und des Farbstoffes dem Lichte gegenüber (Fig. 1). Reduktionsmittel wirken durchwegs nur vermindert

auf den Effekt, bzw. bei größerer Konzentration stabilisierend (Fig. 2). Das Stabilisierungspotential ist bei Anwesenheit von Oxydationsmitteln immer wesentlich positiver als das Thioninpotential ohne Fremdstoffzusatz, bei Anwesenheit von Reduktionsmitteln jedoch wesentlich negativer. Die Geschwindigkeiten der Potentialänderungen werden bei allen Fremdstoffwirkungen *vermindert*, wobei offenbar Beziehungen zwischen dieser *Inhibitorwirkung* und dem Stabilisierungspotential vorhanden sind. Die bekannten Gesetzmäßigkeiten der Inhibitorwirkungen¹ bei chemischen Reaktionen lassen sich auch auf den untersuchten photogalvanischen Effekt anwenden, wobei die Kenntnis des Stabilisierungspotentials einen Vorteil darstellt.

K. WEBER und E. MATIJEVIĆ

Zagreb (Jugoslawien), den 8. März 1947.

Summary

An attempt has been made to systematize the phenomena which are included by the term of "Becquerel's effect". BECQUEREL's photogalvanic effect has been thoroughly investigated on systems composed of organic redox-dyes and organic acceptors, especially regarding the speed of changes in potential and the influence of reducing and oxidizing agents. Possibilities of increasing and stabilizing the electromotor forces of the investigated photogalvanic cells have been ascertained. It has been proved that the well known rules governing inhibition of chemical reaction apply to the investigated systems.

¹ E. BAUR, Zahlreiche Arbeiten in *Helv. chim. acta*, ab 1929. – K. WEBER, *Inhibitorwirkungen*, Stuttgart 1938. – C. OUELLET, *Helv. chim. acta* 14, 936 (1931).

Der Typus der Polymerisation des flüssigen Vinylchlorids

Untersuchungen über die Polymerisation des Vinylchlorids, welche wir vor einiger Zeit aufgenommen haben, lieferten schon einige recht aufschlußreiche Ergebnisse. Wir teilen diese im folgenden kurz mit.

Wir haben das Vinylchlorid von allen Beimengungen möglichst weitgehend befreit und zur Polymerisation in Röhren aus Jenaer Geräteglas im Hochvakuum eingeschmolzen. Zuerst stellten wir einige Versuche über die thermische Polymerisation bei 20, 50, 70, 90, 100 und 110° an. Durch Einhalten sehr sauberer Versuchsbedingungen, besonders durch sorgfältige Entfernung des Sauerstoffs, konnten wir erreichen, daß auch bei langer Versuchsdauer (bei 20° 1000 Stunden, bei 70° 300 Stunden, bei 90° 50 Stunden) keinerlei Veränderung des Monomeren eintrat. War die Entfernung des Sauerstoffs nicht so vollkommen, so entstand ziemlich rasch eine ganz leichte weißliche Trübung, die aber auch bei langer Versuchsdauer (bei 50° 500 Stunden, bei 100° 35 Stunden) sich nicht merklich verstärkte. Sie entsprach in dem Versuch bei 50° etwa einem Polymerisationsumsatz von 0,007% und konnte bei dem 100°-Versuch gewichtsmäßig überhaupt nicht erfaßt werden. Daß es sich hier tatsächlich um eine Sauerstoffwirkung handelt, wurde durch eigene Versuche mit Sauerstoffzusatz sichergestellt. Feuchtigkeitspuren hatten keine polymerisierende Wirkung. Es sei noch erwähnt, daß bei den Proben, die lange Zeit bei höheren Temperaturen gehalten worden waren, nach der Ent-

¹ O. DIMROTH, *Angew. Chemie* 46, 571 (1932). – K. WEBER, *Z. physikal. Chemie (A)* 172, 459 (1935); (B) 30, 69 (1935). – CHOW F. BACON, *J. Amer. chem. Soc.* 57, 1437 (1935).

fernung des Vinylchlorids in den Reaktionsröhren ein chloroformähnlicher Geruch zu bemerken war, der vielleicht von spurenweise gebildetem Dimeren herührte. Die nächsten Versuche führten wir mit Zusatz von Benzoylperoxyd aus. Im Gegensatz zu den rein thermischen Versuchen trat hier mit gut meßbarer Geschwindigkeit Polymerisation ein. In Tabelle I geben wir zwei Versuche wieder.

Tabelle I

Polymerisation des Vinylchlorids bei Benzoylperoxydanregung

Polymerisationstemperatur °C	Polymerisationsdauer Stunden	Konzentration des Peroxyds Mole/Mol Vinylchlorid	Polymerisationsumsatz %	$\frac{\eta_{sp}}{c}$ des Polymerisats in Tetrahydrofuran
20	47	$2,4 \cdot 10^{-3}$	10	0,18
50	4	$1,8 \cdot 10^{-3}$	14	0,10

Die Polymerisate sind weiß und im Monomeren praktisch unlöslich. Da in den Gefäßen nach der Polymerisation kein Chlorwasserstoff nachweisbar war, ist bewiesen, daß unter den vorliegenden Bedingungen kein Chlorwasserstoff aus den Polymeren abgespalten wird.

Wir bemerken ausdrücklich, daß der Gegensatz: keine Polymerisation bei thermischer Anregung, Bildung hochmolekularer Polymerisate¹ durch Peroxydanregung, auch an völlig gleichartig gereinigtem und

Tabelle II

Polymerisationstypen

Monomere Substanzen	Thermische Anregung	Peroxydanregung
Styrol; o-Chlorstyrol; p-Chlorstyrol	hochmolekulare Polymerisate	hochmolekulare Polymerisate
Inden; α -Methylstyrol	niedrigmolekulare Polymerisate	niedrigmolekulare Polymerisate
Vinylchlorid	keine Polymerisation zwischen 20 und 110°	hochmolekulare Polymerisate

unter gleichen Bedingungen – nur das eine Mal ohne Peroxyd, das andere Mal mit Peroxydzusatz – eingeschmolzenem Vinylchlorid auftrat. Nach allem was wir als bisher über Inhibitorwirkung wissen, erscheint es ausgeschlossen, daß es sich beim Ausbleiben der thermischen Polymerisation um einen Inhibitoreffekt handelt. Die Polymerisation des Vinylchlorids bildet damit neben der Polymerisation der bisher von uns untersuchten, aromatisch substituierten Äthylene einen neuartigen Typus. Wir stellen die verschiedenen Polymerisationstypen in Tabelle II übersichtlich zusammen.

In dieses Schema lassen sich verschiedene in der Literatur beschriebene Substanzen mit mehr oder weniger großer Wahrscheinlichkeit einordnen; auch Ver-

treter einer vierten Gruppe, bei der mit thermischer Anregung keine Polymerisation, mit Peroxydanregung aber niedrigmolekulare Polymerisate erhalten werden, scheinen schon beschrieben zu sein. Auf diese Punkte soll aber erst später an Hand eines reicheren eigenen Versuchsmaterials näher eingegangen werden.

J. W. BREITENBACH und W. THURY

I. chemisches Laboratorium der Universität Wien, den 17. Mai 1947.

Summary

Pure liquid vinyl chloride cannot be made to polymerize through heating it up to 110°. In the presence of benzoylperoxide on the contrary polymerizes with large molecules are formed by rapid reactions already at low temperatures (20°–50°). In this respect vinyl chloride distinguishes itself from the aromatically substituted ethylenes, which polymerize not only in the presence of peroxide but also in consequence of a purely thermal stimulus.

Über die Adsorptionskraft der Pektine in organischen Lösungsmitteln

Bei der Erklärung der beachtlichen Wirksamkeit der Pektinpräparate in der Medizin, besonders bei Magen- und Darmerkrankungen, wird in der Literatur immer wieder auf die angeblich sehr starke Adsorptionskraft des Pektins verwiesen. Hierbei berufen sich viele Autoren auf die Reagenzglasversuche ZIEGELMAYERS¹, nach denen Pektinen eine der Tierkohle beinahe ebenbürtige Oberflächenaktivität zukommen soll.

Als Adsorption bezeichnet man nach WO. OSTWALD Konzentrationsänderungen disperser Phasen in Grenzflächen. Die zur Untersuchung notwendige Phasentrennung (fest-flüssig) kann jedoch bei der von ZIEGELMAYER angegebenen Technik, die in einfachen Filtrationen bestand, überhaupt nicht stattgefunden haben, benutzte er doch als flüssige Phase Wasser, in dem sich Pektin als hydrophiles Fadenkolloid löst.

Will man, was der Autor beabsichtigt, mittels einfacher Filtrationen Pektin von der flüssigen Phase trennen – andere Verfahren der Abscheidung unter Verwendung chemischer oder physikalischer Methoden werden von ZIEGELMAYER nicht in Betracht gezogen – so kommt hierfür in erster Linie die Benützung organischer Solventien in Frage, in denen Pektin unlöslich ist.

Wir haben daher Untersuchungen in organischen Lösungsmitteln ausgeführt, wobei als «Adsorbentien» 12 Pektinpräparate verschiedenster Herkunft verwendet wurden, welche wir mit Tierkohle und Bolus alba sterilisata verglichen.

Die Pektinpräparate wurden nach EICHENBERGER² mit wäßrig-alkoholischer Salzsäure behandelt und mit Alkohol gewaschen. Das Äquivalentgewicht (gleich Pektinmenge in Gramm, welche einem Äquivalent freier Carboxylgruppen entspricht), wurde nach DEUEL³ ermittelt und die relative Viskosität η_r in 0,5%iger wäßriger Lösung bestimmt (vgl. auch Tabelle II).

Als Adsorbenda verwendeten wir eine Reihe von organischen Farbstoffen, Säuren und Basen in verschiedenen Verdünnungen und Lösungsmitteln (s. Tabelle I).

¹ ZIEGELMAYER, Klin. Wschr. 15, 19 (1936).² EICHENBERGER, Mitt. Lebensmittelunters. Hyg. 34, 33 (1943).³ DEUEL, Ber. Schweiz. bot. Ges. 53, 225 (1943).

¹ Nach den Angaben von STAUDINGER und SCHNEIDERS, Liebigs Ann. Chemie 541, 151 (1939), entspricht dem η_{sp}/c -Wert 0,10 ein mittlerer Polymerisationsgrad von etwa 1400, dem η_{sp}/c -Wert 0,18 etwa 4000.

Tabelle I

Adsorbend		Lösungsmittel	% adsorbiert durch			geprüfte Pektine (vgl. Tabelle II)
Substanz	Verdünnung		Tierkohle	Bolus	Pektine	
Anilin	10 ⁻³	Äthanol	29	1,5	0,7–1,5	7, 9, 12
Anilin	10 ⁻³	Benzol	40	6	1,4–4,1	1–12
Auramin	10 ⁻⁵	Äthanol	100	22	0	1–12
Benzoessäure	10 ⁻³	Äthanol	17	0	0	7, 9
Benzoessäure	10 ⁻³	Benzol	64	16	0	7, 9
Chinalizarin	10 ⁻⁵	Essigester	100	58	0	7, 9
Eosin	10 ⁻⁵	Eisessig	100	0	0	7, 9
Fettrot	10 ⁻⁵	Acetessigester	100	3	0	7, 9
Fettrot	10 ⁻⁵	Aceton	100	0	0	7, 9
Fettrot	10 ⁻⁵	Benzol	100	0	0	7, 9
Fettrot	10 ⁻⁵	Tetrachlorkohlenstoff	100	26	0	1–12
Gentianaviolett	10 ⁻⁵	Äthanol	100	47	0	9
Methylenblau	10 ⁻⁴	Äthanol	100	70	0	9
Methylviolett	10 ⁻⁵	Aceton	100	13	0	1–12
Pikrinsäure	10 ⁻⁴	Äthanol	100	—	0	1, 7, 9
Pikrinsäure	10 ⁻⁵	Äthanol	100	—	0	9, 11
Pikrinsäure	10 ⁻⁵	Xylol	100	100	0	7, 9
Safranin	10 ⁻⁵	Äthanol	100	70	0	7, 9
Safranin	10 ⁻⁵	Isobutanol	100	88	0	7, 9
Salizylsäure	3 · 10 ⁻⁴	Chloroform-Petrol-äthergemisch (2:3)	100	25	0	9

Tabelle II

(Adsorption von Anilin in Benzol (ca. 1:1000) durch verschiedene Pektine)

Nr.	Pektinart	Äqui- valent- gewicht	η _r (½%)	% Anilin adsorbiert
1	Apfelpektin	1500	4,5	1,4
2	Apfelpektin	1200	4,5	1,6
3	Apfelpektin	1100	7,0	1,6
4	Citruspektin	1000	5,4	1,9
5	Apfelpektin	1000	9,6	2,0
6	Citruspektin	800	6,2	2,2
7	Citruspektin	800	4,6	2,2
8	Apfelpektin	800	2,3	2,2
9	Apfelpektin	590	6,2	2,7
10	Apfelpektin	460	4,1	3,2
11	Apfelpektin	400	1,3	3,7
12	Citruspektin	380	1,4	4,1
Bolus alba				6,0
Tierkohle				40,0

Die Versuchsanordnung gestaltete sich wie folgt: 3 g Adsorbens wurden mit 100 cm³ Lösung 10 Minuten geschüttelt und anschließend filtriert. Die Konzentrationsänderung des gelösten Stoffes im Filtrat ermittelten wir durch Vergleich mit einer filtrierten Stammlösung. Die Messungen erfolgten im allgemeinen auf kolorimetrischem Wege; Benzoessäure wurde alkalimetrisch und Anilin durch Bromid/Bromat-Titration bestimmt.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle I zusammengefaßt, deren letzte Spalte die untersuchten Pektine gemäß Tabelle II wiedergibt.

Aus Tabelle I geht klar hervor, daß die Pektine aus organischen Solventien im Gegensatz zu Tierkohle und Bolus alba *weder Farbstoffe noch Säuren adsorbieren*.

Hingegen vermögen Pektine Anilin aus Alkohol oder Benzol in geringem Maße aufzunehmen. Diese Anilinadsorption ist, wie Tabelle II zeigt, umgekehrt proportional dem Äquivalentgewicht des Pektins bzw. proportional dem Gehalt an freien Carboxylgruppen, während Viskosität resp. Kettenlänge sowie Herkunft ohne Einfluß sind. Daraus geht deutlich hervor, daß diese adsorptive Wirkung nicht auf einer Oberflächenaktivität des Pektins beruht, sondern eine Folge *chemischer Affinität* ist: es sind die sauren Carboxylgruppen, welche das basische Anilin zu binden vermögen.

In wäßrigem Medium können wesentlich andere Verhältnisse vorliegen. Noch nicht abgeschlossene Versuche, über die später berichtet wird, zeigen, daß Pektin in diesem Falle nur eine schwache, der Tierkohle weit unterlegene Oberflächenaktivität besitzt.

R. BECHER und S. LEYA
Wissenschaftliches Laboratorium der Aristopharm-Fabrikations-AG., Basel, den 21. Mai 1947.

Summary

Pectin does not present any surface activities in organic solvents. An eventual fixation of some substances is based on mutual chemical affinity.

Sur la nature de l'estérase
contenue dans le venin de cobra

Dans un travail antérieur¹ nous avons montré la possibilité d'appliquer la méthode manométrique de WARBURG à la mesure de l'action diastasique du venin de

¹ F. BOVER et D. BOVER, Ann. de l'Inst. Past. 69, 309 (1943)

Hydrolysés par le venin	Non hydrolysés par le venin	Inhibiteurs
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{---} \text{CH} \text{---} \text{OCO---NH}_2 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \end{array}$
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO---CH}_2\text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \quad 1^*$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \quad (2207 \text{ F.}) \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \end{array}$
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{COO---CH---CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \quad \text{CH}_3 \quad 1^* \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \quad (2208 \text{ F.}) \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCO}(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{OH} \end{array}$
	Myristicylcholine Palmitylcholine Stéarylcholine	

cobra et avons rapporté les résultats obtenus sur l'hydrolyse de l'acétylcholine.

D'après les recherches de certains auteurs^{2,3} la présence d'une cholinestérase dans la sécrétion venimeuse du cobra était un fait certain, bien que les opinions restaient très diverses sur le rôle que pouvait jouer^{2,3,4} cet enzyme au cours de l'intoxication provoquée par la morsure du cobra.

Depuis, la cholinestérase de la sécrétion venimeuse a été isolée⁵ et s'est avérée 15 fois plus active⁶ que le ferment purifié par STEDMAN⁷ à partir du sérum de cheval.

La suite de nos recherches devait nous amener à des résultats d'ordre plus général en ce qui concerne l'action très particulière de cette diastase.

Nous avons été amenés à constater en premier lieu que l'action de cette estérase sur les esters gras de la choline s'exerce d'autant plus énergiquement que le poids moléculaire de l'acide engagé est moins élevé. A partir des chaînes en C₄ il n'y a plus d'hydrolyse. Les très longues chaînes à partir de C₁₀ non seulement ne sont pas hydrolysées mais exercent même une action inhibitrice incontestable. La présence d'une fonction uréthane, comme dans le cas de la carbaminoyl-β-méthylcholine par exemple, fait que le venin n'a pas de prise. L'on peut résumer ces quelques résultats dans le tableau précédent.

En poursuivant notre travail nous avons cependant pu constater que l'action de cette estérase ne paraît pas s'exercer spécialement vis-à-vis des esters de la choline à poids moléculaire faible, mais qu'elle s'étend de façon bien plus générale aux esters d'acides et d'alcools renfermant le radical acétyl.

1* Nous remercions très vivement M. ERNEST KAHANE, Maître de Recherches au Centre National de la Recherche, qui nous a fourni les échantillons de propionylcholine et de isobutirylcholine dont nous nous sommes servis pour nos essais.

2 N. K. JYNEGAR, K. B. SEHRA, B. MUKERJI et R. N. CHOPRA. Current Science 7, 51-53 (1938).

3 B. N. GOSH, Österr. Chem. Ztg. 43, 158-163 (1940).

4 R. N. CHOPRA et J. S. CHOWHAN, Ind. med. Gaz. 75, 69-75 (1940).

5 D. K. CHOWDHURI, Science and Culture 8, 238 (1942).

6 D. K. CHOWDHURI, Ann. Bioch. exp. Med. 4, 77, 86 (1944).

7 E. STEDMAN et L. H. EASSON, Bioch. J. 26, 2 (1932).

Nous avons pu en effet hydrolyser par le venin de cobra des groupements acétiques variés comme par exemple:

1° Certains esters d'acides gras:

l'acétate d'éthyle,
l'acétate de méthyle,
l'acétate de propyle,

et de plus en plus faiblement, à mesure que le poids moléculaire s'élève

l'acétate de butyle,
l'acétate d'isoamyle

jusqu'à des termes très élevés comme le lactate d'amyle, le ricinoléate de méthyle etc. qui ne sont plus hydrolysés.

VENIN DE COBRA

esters acétiques

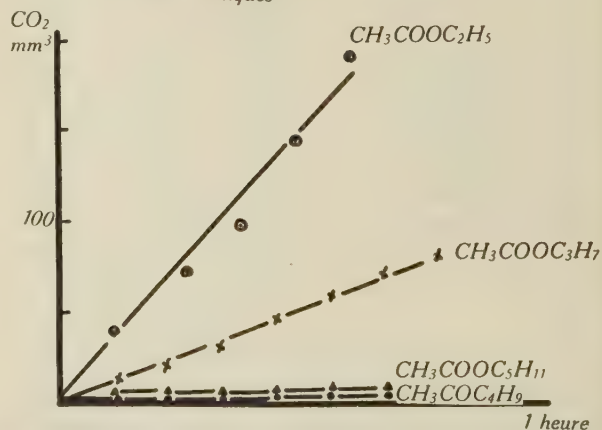


Fig. 1. Action du venin de cobra sur certains esters d'acides gras.

2° Les esters acétiques du glycol:

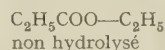
la monoacétine,
la diacétine.

3° Les esters acétiques de la glycérine:

la monoacétine,
la diacétine,
la triacétine.

Le cas de la tributyrine est un peu différent. Si l'on s'en tient à la technique manométrique, il s'avère que l'hydrolyse par le venin ne se fait pas dans les limites de temps que j'ai employées pour les autres produits. Quelques mesures stalagmométriques nous ont par contre permis de constater que la coupure de la tributyrine se fait tout de même, et qu'elle devient appréciable après trois heures environ de mise en contact.

L'importance du radical acétyl apparaît aussi dans le cas des esters acétiques d'acides gras. Nous voyons en effet que cette estérase hydrolyse l'acétate d'éthyle et reste sans action sur le propionate d'éthyle.



Substances inhibitrices de l'estérase contenue dans le venin de cobra

Les inhibiteurs de l'estérase du venin de cobra peuvent se ranger en deux catégories principales.

Il y a en premier lieu ceux qui altèrent le venin, comme le KMnO_4 ou le Bleu de Méthylène¹. Cette action ne mérite pas qu'on s'y attarde.

VENIN DE COBRA
acétylcholine

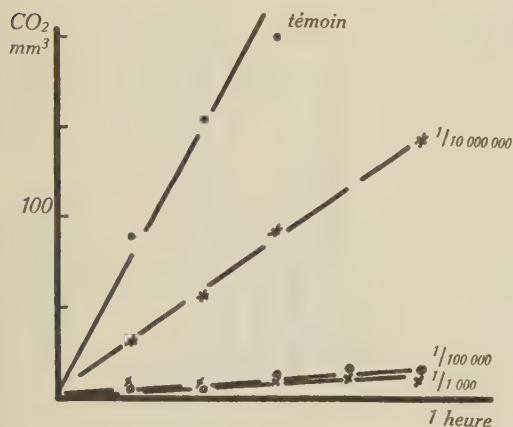
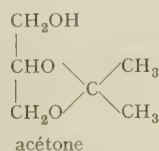
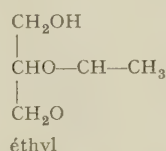
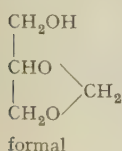


Fig. 2. Effet du di-isopropyl-fluorophosphate sur l'estérase du venin de cobra.

Une deuxième classe d'inhibiteurs groupe les substances ayant une analogie de formules avec les substrats employés, et cela peut être expliqué, si l'on admet l'hypothèse des réactions compétitives entre molécules de formules analogues, émise par ROEPKE². Nous avons vu que, dans le cas de l'action inhibitrice de la myristicylecholine cette théorie trouve une confirmation très élégante. Il en est de même, en ce qui concerne l'hydrolyse de la triacétine, des dérivés formol, éthyl et acétone de la glycérine qui exercent une véritable action inhibitrice.



¹ F. BOVET et D. BOVET, Ann. de l'Inst. Past. 69, 309 (1943).

² M. H. ROEPKE, J. Pharmacol. Exp. Ther. 59, 264 (1937).

L'on peut ranger dans cette même catégorie un certain nombre d'inhibiteurs spécifiques des cholinestérases qui empêchent également l'action de l'estérase du venin. L'ésérine exerce en effet ici son action inhibitrice classique encore très marquée à une dose de $2/1000000$ ¹.

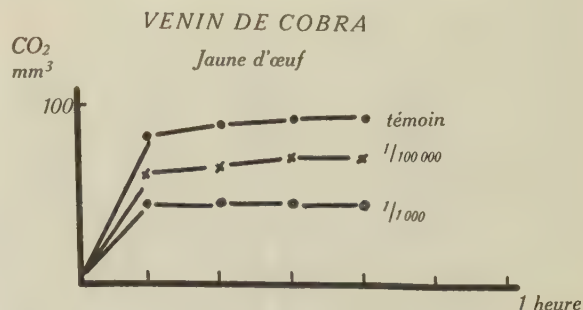


Fig. 3. Effet du di-isopropyl-fluorophosphate sur la lécithinase du venin de cobra.

Nous avons pu également essayer l'action inhibitrice du diisopropylfluorophosphate (D.F.P.) dont les travaux de MACKWORTH, puis de McCOMBIE et SAUNDERS^{2,3} avaient mis en lumière l'action nettement anticholinestérasique.

Vis-à-vis de l'estérase contenue dans le venin de cobra le D.F.P. se montre environ 4 fois plus actif que l'ésérine (fig. 2) alors qu'il est sans action sur la lécithinase ou «hémolysine» de cette sécrétion (fig. 3) dont l'activité peut être également suivie par la méthode manométrique.

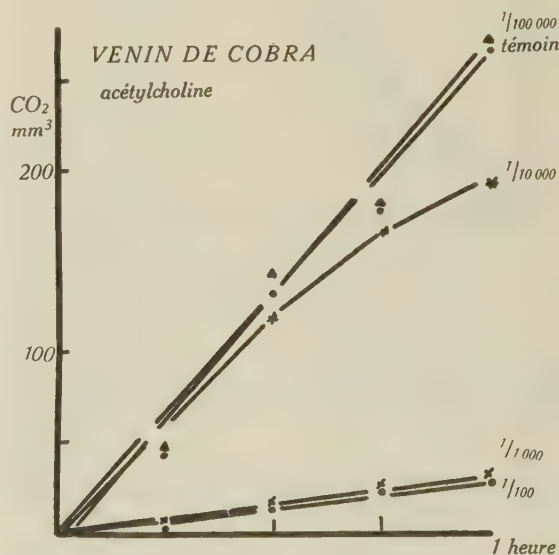


Fig. 4. Effet de la myristicylecholine sur l'estérase du venin de cobra.

Cette inhibition diastasique ne s'accompagne pas *in vivo* de la moindre protection vis-à-vis de l'intoxication par le venin de cobra, aussi bien chez la Souris que chez le Cobaye. Nos essais dans ce sens ont été tout à fait négatifs, ce qui paraît infirmer l'opinion exprimée

¹ F. BOVET et D. BOVET, Ann. de l'Inst. Past. 69, 309 (1943).

² McCOMBIE et SAUNDERS, Nature 157, 287 (1946).

³ C'est à l'obligeance de McCOMBIE et de SAUNDERS que nous devons d'avoir pu procéder à nos essais avec le D.F.P. Nous les remercions bien vivement ici.

par certains auteurs^{1,2} qui pensent pouvoir assimiler l'action estérasiqne à l'effet neurotoxique du venin de cobra.

De même que l'ésérine, le D.F.P. n'a aucunement protégé les souris et les cobayes intoxiqués par le venin et les animaux sont morts dans les mêmes délais que les témoins et en présentant des troubles tout à fait analogues.

En résumé, l'application de la méthode manométrique de WARBURG nous a permis de poursuivre une étude plus poussée de l'action estérasiqne du venin de cobra. Nous avons rapidement constaté que, contrairement à l'opinion généralement admise, ce ferment n'est pas une cholinestérase, car son action s'étend de façon bien plus générale aux esters d'acides et d'alcools renfermant le radical acétyl et de poids moléculaire peu élevé. Ce ferment pourrait donc être plutôt appelé une acétylase.

L'action inhibitrice de certaines substances caractérise bien le caractère propre de cette diastase: la my-

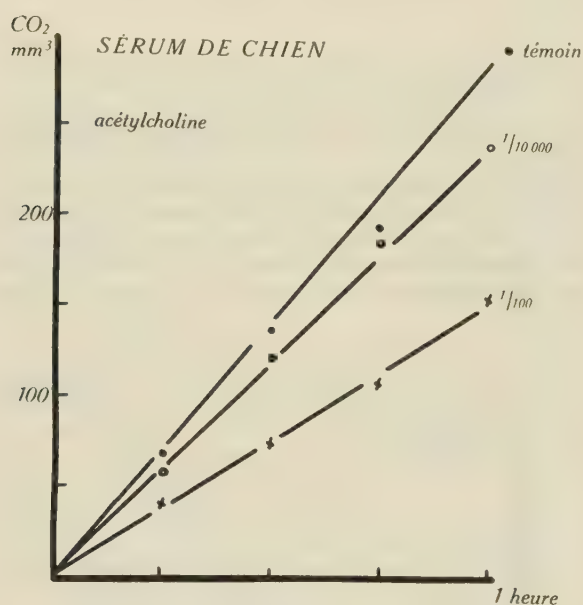


Fig. 5. Effet de la myristicyleholine sur la cholinestérase du sérum de Chien.

risticyleholine, par exemple, qui inhibe l'action estérasiqne du venin de cobra, reste sans action sur la cholinestérase contenue dans le sérum de Chien (fig. 4 et 5).

F. BOVET NITTI

Laboratoire de chimie thérapeutique, Institut Pasteur, Paris, le 12 mai 1947.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der WARBURG-Methode wird die Esterase-wirkung von Kobragift geprüft. Das Ferment wirkt nicht nur auf Acetylcholin, sondern auch auf verschiedene andere Ester mit kleinerem Molekulargewicht, die die Acetylgruppe enthalten. Es ist demnach nicht als Cholinestérase, sondern als Acetylase zu bezeichnen. Myristicylecholin beeinflusst die Cholinestérase im Blutserum des Hundes nicht, hemmt dagegen die Acetylase im Kobragift.

¹ N. K. JYNEGER, K. B. SEHRA, B. MUKERJI et R. N. CHOPRA, *Current Science* 7, 51-53 (1938).

² R. N. CHOPRA et J. S. CHOWHAN, *Ind. med. Gaz.* 75, 69-75 (1940).

Failure of Increase of Bisulphite-binding Substances after Fat and Protein Intake during Pregnancy

The level of bisulphite-binding substances (B.B.S.) after fat and protein intake or protein intake increases in the blood of healthy persons¹. All substances containing the aldehyd- or keto-group bind bisulphites. The increase of these substances in our experiments are chiefly due to

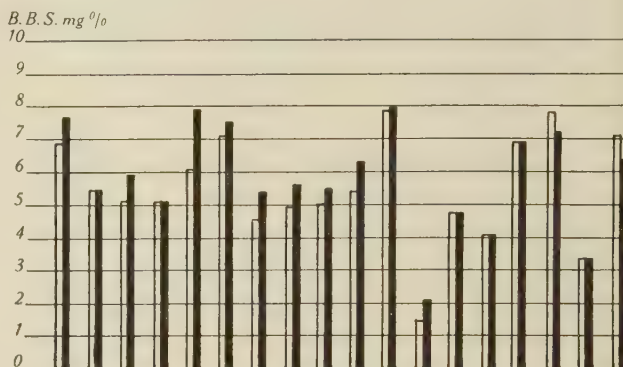


Fig. 1. Level of B.B.S. in blood before and after fat and protein intake in pregnancy after the III^d month.

the augmented quantity of keto-compounds, because we found acetonuria in cases with high B.B.S.-content of the blood following fat and protein intake. In one of our cases the B.B.S. failed to increase after administration of fat and protein. The person investigated was pregnant. Therefore we determined the B.B.S. after fat and protein intake in 21 cases of pregnancy.

Blood was taken from the pregnant women in the morning before breakfast, and 6 hours later they were given a meal consisting of 120 g of bacon and 100 g of cheese. (In two cases only 100 g of cheese was given.) In both specimens the quantity of B.B.S. was determined with the method of CLIFT and COOK². Out of 18 pregnant women, whose pregnancy was beyond the third month, in 17 the level of B.B.S. in blood remained unchanged, while in 27 of 32 non-pregnant women an increase from 1.1 mg per cent to 5.1 mg per cent was found after intake of the same amount of fat and protein. The average increase was 0.31 mg per cent in pregnant cases, a value not exceeding the limit of error, as against 1.92 mg per cent in non-pregnant cases. In three cases of early pregnancy (IInd-III^d month) the response was similar to that of non-pregnant cases.

Our results may be explained by the impaired hormone production of the anterior pituitary gland during pregnancy after the third month. PHILIPS observed that in pregnancy the gonadotrophic activity of the pituitary gland is reduced after the third month. YOUNG³ observed that pituitary extracts have no diabetogenic effect during pregnancy. The essential difference between our experiments and those of YOUNG consists in the fact that in his cases an extract administered was ineffective, whereas in our investigations the diabetogenic hormone production of the experimental subjects themselves was wanting. This could be explained by the early investigation of BURLANDO⁴, who found in the liver of pregnant animals

¹ GÓTH and BIKICH, *Nature* 159, 170 (1947).

² CLIFT and COOK, *Bioch. J.* 26, 1789 (1932).

³ YOUNG, *Schweiz. med. Wschr.* 76, 894 (1946).

⁴ BURLANDO, see MÖLLERSTRÖM, *Das Diabetesproblem*. Stockholm. Pag. 42.

more glycogen than in the liver of non-pregnant ones. It is known that in a liver richer in glycogen the quantity of keton bodies produced is diminished. The theory of impaired diabetogenic hormone production is supported by our findings in cases of pituitary

Our experiments throw a new light on the problem of diabetes and pregnancy. Though there are contradictory observations, most authors have reported on an amelioration of diabetes during pregnancy (FALTA¹, HETÉNYI², FORRÓ³ etc.) Several authors emphasize the

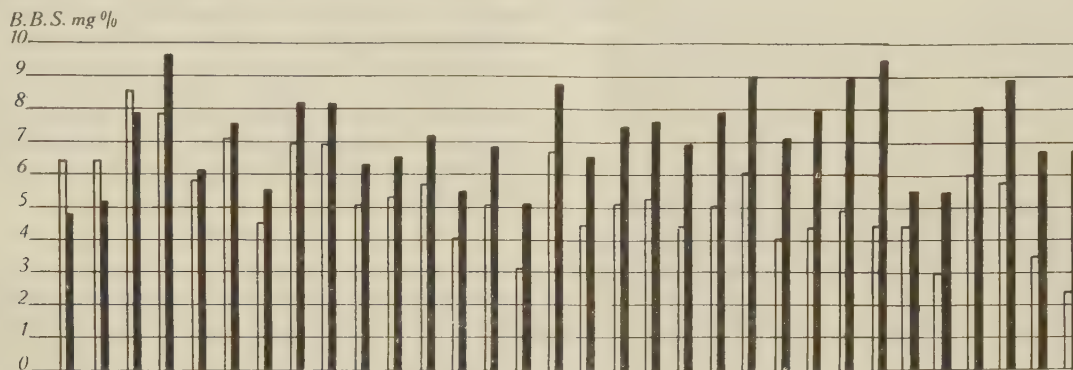


Fig. 2. Level of B.B.S. in blood before and after fat and protein intake in non-pregnant cases.

hypofunction. We could show in seven cases of hypopituitarism (dwarfism, obesity with amenorrhœa, Laurence-Moon-Biedl-disease, hypogenitalism) the fail-



Fig. 3. Lactation.

ure of increase of B.B.S. after fat and protein intake; after treatment with pituitary extract (praephyson) the response became normal.

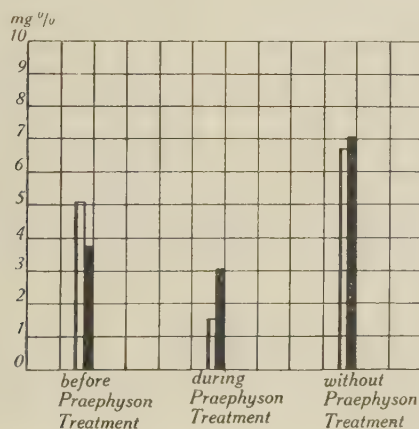


Fig. 4. B.B.S. before and after fat and protein intake in a case of pituitary hypofunction.

Non-pregnant cases

Increase of B.B.S. in blood after fat and protein intake (5 hours) in mg per cent			
1. Sound person	6.32	4.82	-1.50
2. Amenorrhœa	6.45	5.18	-1.27
3. Cirrhosis of liver.	8.51	7.82	-0.69
4. Sound person	5.82	6.15	0.33
5. Sound person	7.06	7.50	0.54
6. Sound person	4.40	5.50	1.10
7. Sound person	6.95	8.20	1.25
8. Sound person	6.95	8.20	1.25
9. Sound person	5.06	6.31	1.25
10. Asthma bronchiale	5.32	6.57	1.25
11. Myodegeneratio cordis	5.70	7.21	1.51
12. Sound person	4.05	5.56	1.51
13. Sound person	7.84	9.50	1.66
14. Renal diabetes	5.06	6.76	1.70
15. Lues congenitalis	3.17	5.06	1.89
16. Myodegeneratio cordis	6.71	8.73	2.02
17. Sound person	5.99	8.03	2.04
18. Diabetes	4.45	6.57	2.12
19. Sound person	4.57	6.70	2.13
20. Diabetes	5.20	7.49	2.29
21. Osteomyelitis	5.30	7.64	2.34
22. Hyperthyreodism	4.42	6.90	2.48
23. Ischias	2.97	5.47	2.50
24. Sound person	5.06	7.84	2.78
25. Cancer of liver	6.08	9.00	2.92
26. Sound person	4.05	7.15	3.10
27. Sound person	5.75	8.91	3.18
28. Sound person	3.52	6.76	3.24
29. Cancer of stomach	4.41	7.98	3.57
30. Sound person	4.94	8.94	4.00
31. Myelitis	2.42	6.75	4.33
32. Cancer of stomach.	4.41	9.48	5.07
Average: 1.92			

¹ FALTA, Die Zuckerkrankheit, 1944, p. 161.
² HETÉNYI, Anyagcserebetegségek (Hungarian) (1933).
³ FORRÓ, Wiener klin. Wschr. 2, 1337 (1933).

Pregnant cases

month	II nd –III ^d month		
1. II nd	4.92	6.88	1.96
2. II nd	4.05	5.68	1.63
3. III ^d	4.12	6.92	2.80
	III ^d –IX th month		
4. III ^d	6.90	7.77	0.87
5. III ^d	5.45	5.45	0
6. IV th	5.12	5.95	0.77
7. V th	3.44	3.44	0
8. V th	5.06	5.06	0
9. VI th	6.20	7.87	1.67
10. VI th	7.06	7.51	0.45
11. VI th	7.21	6.45	–0.76
12. VII th	4.69	5.45	0.76
13. VII th	4.94	5.86	0.76
14. VII th	5.06	5.57	0.51
15. VII th	5.45	6.32	0.83
16. VII th	7.84	7.97	0.13
17. VIII th	1.40	2.16	0.76
18. VIII th	4.78	4.78	0
19. IX th	4.10	4.10	0
20. IX th	6.95	6.95	0
21. IX th	7.72	7.20	–0.52
Average (III ^d –IX th month): 0.31			

action of the foetal pancreas contributing with its insulin production to the sugar metabolism of the mother. This explanation cannot be regarded as satisfactory. Our results speak in favour of the assumption that the secretion of diabetogenic hormone is greatly diminished in pregnancy after the third month, and that this is the cause of amelioration of diabetes in pregnancy.

A. GÓTH, G. BIKICH, H. HARMATH

St. János Hospital, Medical Department I, Budapest, February 28, 1947.

Résumé

6 heures après l'absorption de graisse et d'albumine, on constate dans le sang une augmentation de la concentration des substances qui fixent le bisulfite. Cette augmentation, due à des combinaisons cétoniques, ne se produit pas pendant la grossesse à partir du 3^{me} ou du 4^{me} mois. Elle fait aussi défaut, dans certains cas, pendant la lactation. Du moment que l'augmentation de la teneur du sang en bisulfites ne se produit pas non plus lors d'une déficience du lobe antérieur de l'hypophyse, il semble que l'on en peut conclure que durant la grossesse la sécrétion de l'hormone diabétogénique du lobe antérieur est fortement diminuée ou que l'action de celle-ci est enrayée.

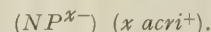
The Mechanism of the Biochemical Activity of Acridines

In two preceding papers¹ we have shown: (1) that acridines (and basic dyes in general) inhibit the respiration and the growth of baker's yeast; (2) that the in-

hibition of respiration can be reversed not only by means of nucleic acid and of nucleotides, but also by means of salts. This paper offers an explanation of the above stated facts.

In first instance we have now proved that acridines are bound by the nucleoproteids of the yeast cell; indeed, we were able to show that dried and alcohol-fixed yeast cells are no longer colored by acridines after treatment with crystalline ribonuclease.

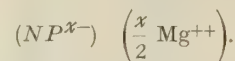
The binding of acridines (and other basic dyes) is based upon the formation of an electro-adsorption complex between the negatively charged nucleoproteids and the acridine ions. We can represent such complexes as follows:



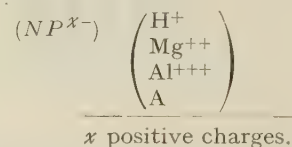
That such complexes are really built can be shown readily by desorption experiments by means of different cations, such as H⁺, Na⁺, Ng⁺⁺, Al⁺⁺⁺. In our experiments we proceeded in three different ways:

(1) On a series of watch glasses we put 0.1 ml of a 1% suspension of baker's yeast; we dry it at a temperature below 70° C, fix it during 10 minutes by means of alcohol and stain with acridines (tryptaflavine); then we wash with alcohol until the washing fluid is colorless. The preparations thus stained lose their color partially or completely when treated with different salt solutions, in which the cation is the active agent. We have found that the power of the cations to wash out the acridines depends on their valence. The position of the hydrogen ion is, however, an outstanding one.

We admit that when Mg-ions are employed to wash out the acridines, a new complex is built such as:



This means that in the adsorption complexes we admit the possibility of a competition between cations, and that mixed complexes exist such as:



It is to be recalled that here MAC CALLA¹ proved the existence of a competition between different cations in complexes formed between negatively charged bacterial cells and cations.

(2) We have stained dried and alcohol-fixed yeast cells on the one side with acridines (or other basic dyes) and on the other with acridine solutions containing different concentrations of different cations (H⁺, Na⁺, Mg⁺⁺, Al⁺⁺⁺); we have then measured the amount of acridine fixed in the two cases. We have found that the same laws apply as in the first series of experiments; that is to say, in the presence of cations no or less acridine is bound, and the valence of the cation (except for H⁺) is the determining factor.

(3) With living yeast cells the same facts were observed. We have treated living yeast cells with acridines in the presence and in the absence of different cations. After centrifuging the color of the supernatant fluid was determined.

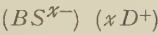
¹ L. MASSART, G. PEETERS, J. DE LEY, and R. VERCAUTEREN, Exper. 3, 119 (1947); 3, 154 (1947).

¹ MAC CALLA: stated by G. B. WISLOCKI, Physiol. Prev. 26, 3 (1946).

In another series of experiments we were able to show: (a) that the same laws as those stated above apply also to the taking up of other basic dyes by dried and by living yeast cells; (b) that cations have the same action upon the taking up of acridines by other basophilic substances, such as mucines.

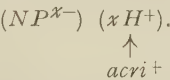
It is to be remembered here that BANK and BUNGENBERG DE JONG¹ showed that the metachromasy of chondroitine sulfate and other negative colloids disappears or diminishes in the presence of cations and admit the existence of electro-adsorption complexes.

From our experiments it follows that basophily is due to the formation of adsorption complexes such as:

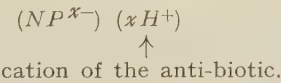


in which *BS* represents the basophilic substance and *D* the dye.

In the light of our researches and taking into account the well-known hypothesis that ribonucleoproteids are necessary for synthesis of proteins (BRACHET-CASPERS-SON), it is logical to admit that basic dyes inhibit the growth of micro-organisms because they take the place of a necessary cation in the electro-adsorption complexes existing in the cell between the nucleoproteids and physiological cations. From their experiments, ALBERT *et al.*² conclude that the toxic action of acridines can be explained by a competition between acridine ions and hydrogen ions. Our researches indicate that this competition takes place in an adsorption complex; we can represent this competition as follows



The hypothesis that antibiotics optimally active in an alkaline medium (e. g. streptomycine) exert their activity through a competition between the antibiotic and hydrogen ions has been advanced³. We represent this competition as follows:



In a preceding paper⁴ we proved that cations are able to reverse the inhibition of the respiration of baker's yeast caused by acridines and other basic dyes. We admit that this reversal is also due to competition between the dye and cations, or what is the same, the inhibition of respiration caused by basic dyes is due to the fact that they replace certain ions in a catalytically active electro-adsorption complex. Of course here we must not think of nucleoproteids, as they do not play any role in respiration, but rather of enzymes activated by a dissociable metallic ion. Here we think more especially of phosphophrases, because they are basophilic and are activated in an aspecific way by Mg-ions. They

might be inactivated by a competition between the Mg-ions and the basic dyes:

$$(\text{Phosphopherase}^{\chi-}) \left(\begin{matrix} \chi \\ 2 \end{matrix} \text{Mg}^{++} \right).$$

\uparrow
acri⁺

It is tempting to surmise that enzymes activated in an aspecific way by Mg⁺⁺ and other bivalent ions owe their activity to the formation of electro-adsorption complexes, such as:

$$(\text{Enzyme}^{\chi-}) \left(\begin{matrix} \chi \\ 2 \end{matrix} \text{Mg}^{++} \right).$$

It is important to state that at least two enzymes, known to be activated by Mg-ions, are optimally active in an alkaline medium and are inhibited by acridines. This is the case for alkaline phosphatase¹ and for cholinesterase²:

$$(\text{Enzyme}^{\chi-}) \left(\begin{matrix} \chi \\ 2 \end{matrix} \text{Mg}^{++} \right).$$

\uparrow
acri⁺

The fact that the adsorption complex containing Mg⁺⁺ or other bivalent ions shows an enzymatic activity might be explained by a well-known hypothesis of alkaline phosphatase activity, so that Mg-ions are responsible for the binding of the substrate. The adsorption complex containing the acridine ion would be an enzymatic inactive one, as the large organic ion does not possess the same properties as the small anorganic ion³.

L. MASSART, G. PEETERS, J. DE LEY,
R. VERCAUTEREN, and A. VAN HOUCKE

Biochemical Laboratory and Pharmacological Laboratory of the Veterinary College, University of Ghent, Mai 12, 1947.

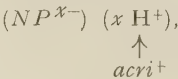
Résumé

Les acridines forment avec les nucléoprotéides des levures, des complexes électro-adsorptifs. Le pouvoir bactéricide des acridines s'exerce par une compétition entre les ion H⁺ de ce complexe et l'ion acridine. Différents enzymes activés par des ions métalliques doivent leur activité catalytique au même type de complexes. Les acridines inhibent ces enzymes parce qu'ils déplacent le cation métallique.

¹ R. IWATSURI and K. NANGO, *Bioch. Z.* 301, 15 (1939).
² L. MASSART and R. DUFAY, *Enzymologia* 9, 364 (1941).
³ Full details of our experiments will be published elsewhere. This research was aided by a grant of the Ella Sachs Plotz Foundation.

Acridines and Streptomycine

In a preceding paper¹, we have shown that acridines interfere with the growth of micro-organisms because they compete with physiological cations, more especially hydrogen ions, in electro-adsorption complexes. These complexes, when saturated with hydrogen ions, can be written:



where *NP* stands for nucleoproteids.

¹ L. MASSART, G. PEETERS, J. DE LEY, R. VERCAUTEREN, and A. VAN HOUCKE, *Exper.* 3, 288 (1947).

¹ O. BANK and H. G. BUNGENBERG DE JONG, *Protoplasma* 32, 489 (1939).
² A. ALBERT, S. RUBBO, R. GOLDAERE, and Y. STONE, *Brit. J. exp. Path.* 26, 160 (1945).
³ E. CHAIN, Lecture at the University of Ghent on April 27th, 1947.
⁴ L. MASSART, G. PEETERS, J. DE LEY, and R. VERCAUTEREN, *Exper.* 3, 154 (1947).

In the same paper¹, we have remarked that the hypothesis has been advanced² that the activity of streptomycin might be due to a competition between H^+ ions and this antibiotic.

We have now proved that this is really the case, and that this competition takes place in an electro-adsorption complex of the type already mentioned.

In fact, it is very easy to show, by methods similar to those we have already described, that in dead and in living yeast cells a competition takes place for the same linkage between acridines and streptomycin, when those two substances are added together to yeast cells.

1st method: On a series of watch glasses we put 0,1 ml of a 1% suspension of baker's yeast, dry it below 70° C, fix it with alcohol and dry it again; then we stain during 10 minutes with trypaflavine 10^{-3} M or with trypaflavine 10^{-3} M containing definite concentrations of streptomycin; we wash with alcohol until the washing fluid is colorless- then we wash the acridine out with HCl (normal solution) and determine by colorimetry (Stufenphotometer).

Here follow the results of such an experiment:

Table I

Concentration of Trypaflavine	Concentration of Streptomycin	Colorimeter Reading
10^{-3} M	0	0.26
10^{-3} M	$\frac{1}{100}$	0.05
10^{-3} M	$\frac{1}{1,000}$	0.10
10^{-3} M	$\frac{1}{10,000}$	0.125

In a concentration of 10^{-3} M trypaflavine and 10^{-4} streptomycin, the trypaflavine has been expelled from the electro-adsorption complex to the extent of 50%.

2nd method: In a series of centrifuge tubes we put 8 ml of fluid composed of 2 ml of a 3% suspension of baker's yeast and 6 ml containing known amounts of trypaflavine and streptomycin; then we centrifuge. The color of the *centrifuged yeast cells* gives a first qualitative idea of the competition between trypaflavine and streptomycin. The supernatant fluid is examined in the stufenphotometer as to its content of trypaflavine.

Here follow the results of such an experiment. The colorimeter reading for the trypaflavine solution used (10^{-4} M) is 1.40.

We see that for a concentration of 10^{-4} M trypaflavine and 10^{-5} streptomycin, about half of the linkages are occupied with acridine.

3rd method: We proceed as in the first method, but stain all the suspensions with trypaflavine, wash with alcohol until the washing fluid is colorless, and then add to the suspensions different concentrations of streptomycin solutions. Through competition the trypaflavine is driven out.

¹ L. MASSART, G. PEETERS, J. DE LEY, R. VERCAUTEREN, and A. VAN HOUCKE, *Experientia*, 3, 288 (1947).

² DR. E. CHAIN, Lecture at the University of Ghent on April 24th, 1947.

Table II

Concentration of		
Trypaflavine	Streptomycin	Colorimeter Reading
10^{-4} M	0	1.22
10^{-4} M	$1 \cdot 10^{-2}$	1.40
10^{-4} M	$1 \cdot 10^{-3}$	1.40
10^{-4} M	$1 \cdot 10^{-4}$	1.355
10^{-4} M	$1 \cdot 10^{-5}$	1.295
10^{-4} M	$1 \cdot 10^{-6}$	1.225

All our results indicate that acridines (and basic dyes in general) interfere with the metabolism of the nucleoproteids. They do this by displacing physiologically active ions, especially hydrogen ions, from an electro-adsorption complex. So does streptomycin. This explains why acridines, which are strong bases, and streptomycin all are more active inhibitors when the hydrogen ion concentration is decreased. Streptomycin and basic dyes have a common effect, but of course it is not impossible that they have still a specific action as well.

During the course of our experiments we had the good fortune to obtain a copy of the paper of COHEN^{1,2}. This author has found that streptomycin combines with nucleic acids to produce polymeric compounds. He suggests that the size of these compounds depends on the combining ratios of the bivalent base (streptomycin contains the diguanido base streptidine) to multivalent nucleates. He concludes that it is not unlikely that the *in vitro* reactivity of streptomycin with nucleic acid is related to the *in vivo* activity of this antibiotic.

Our experiments were performed with a $1/10$ solution of streptomycin Merck put kindly at our disposal by Prof. REGNIER, Director of the Clinic for Internal Medicine of the University of Ghent.

This research was aided by a grant of the Ella Sachs Plotz Foundation and of the Van der Stricht Foundation.

L. MASSART, G. PEETERS, and A. VAN HOUCKE

Biochemical Laboratory and Pharmacological Laboratory of the Veterinary College, University of Ghent, May 17, 1947.

Résumé

La streptomycine et les acridines ont une propriété commune, en ce qu'elles forment avec les nucléoprotéides des levures de complexes électro-adsorptifs.

¹ S. S. COHEN, *J. biol. Chem.* 166, 393 (1946).

² We thank DR. H. VELDSTRA (Amsterdam) for sending us a copy of this interesting paper.

Action *in vitro* de la pénicilline sur la virulence du Tréponème pâle

Le problème n'a été que peu étudié jusqu'ici. Pour DUNHAM et RAKE¹, qui travaillèrent avec la souche Nichols, la pénicilline n'est virulicide *in vitro* qu'à partir de 1 100 unités par centimètre cube. Nos premières re-

¹ W. DUNHAM et G. RAKE, *Am. J. Syph., Gon. a. ven. Dis.* 29, 214 (1945).

cherches, effectuées sur la souche Gand avec le «penicillin (sodium salt)» en tablettes de la «Therapeutic Research Corporation of Great Britain L.D.T.» et avec le «penicillin sodium» en poudre de la firme «Chas. Pfizer & Co., Inc.» (New-York et Chicago), montrèrent¹ qu'à la concentration de 50 unités par centimètre cube et à 37° C l'antibiotique ne détruit pas, après 2 heures, le pouvoir pathogène. Le sort de la mobilité du germe, sous son influence, se trouve décrit également dans nos publications.

Matériel tréponémifère	Conditionnement de l'action pénicillinique			Résultats chez le lapin	
	Unités Oxford par cm ³	Contact <i>in vitro</i>		Quantité inoculée dans chaque testicule	Syphili- sation ²
		Durée	Tem- péra- ture		
Emulsion de syphi- lome tes- ticulaire de lapin	100	3 heures	37° C	1 cm ³	positive
	1 000	id.	id.	1 cm ³	positive
	10 000	id.	id.	1 cm ³	négat. c ³
	0	id.	id.	1 cm ³	positive
Fragment syphilo- mateux de lapin	100	3 heures	37° C	2 greffons	positive
	1 000	id.	id.	id.	positive
	10 000	id.	id.	id.	négat. c
	0	id.	id.	id.	positive
Sang citra- té de la- pin syphi- litique	100	1 heure	18° C	2 cm ³	positive
	1 000	id.	id.	1,5 cm ³	positive
	10 000	id.	id.	1,5 cm ³	négat. c
	0	id.	id.	1 cm ³	positive
Sang hu- main nor- mal + 5 % d'émul- sion sy- philoma- teuse de lapin	100	1 heure	18° C	2 cm ³	positive
	1 000	id.	id.	1,5 cm ³	positive
	10 000	id.	id.	1,5 cm ³	négat. c
	0	id.	id.	0,5 cm ³	positive

Mais, poursuivant nos expériences sur la même souche avec la dernière nommée de ces pénicillines et avec le «penicillin C.S.C. sodium salt» de la «Commercial Solvent Corporation»⁴, nous sommes arrivés à la conclusion que la stérilisation totale peut s'obtenir *in vitro* à raison de 10 000 unités par centimètre cube et un contact de 1 heure à 18° C ou de 3 heures à 37° C, lorsqu'on se sert respectivement, d'une part, de sang citraté à 0,5 % de lapin syphilitique ou de sang humain normal citraté de même et additionné de 5 % d'une émulsion de syphilome testiculaire de lapin (2 à 3 tréponèmes par champ au fond noir) et, d'autre part, soit d'une telle émulsion seule, soit d'un fragment syphilomateux non émulsionné. Le tableau ci-joint donne le détail de nos nouveaux résultats. Chaque fois notre matériel

infectieux était frais et le mélange de l'émulsion tréponémifère avec les solutions de pénicilline se faisait à parties égales. Toujours aussi les témoins développèrent, après le temps habituel, des lésions caractéristiques.

Il y a lieu de noter que l'injection, dans chaque testicule chez le lapin, d'une solution de 20 000 unités de pénicilline dans 2 cm³, qu'elle fût pratiquée immédiatement avant ou en même temps que l'inoculation d'un ½ cm³ d'émulsion fraîche tréponémifère semblable à celle précisée plus haut, ne protégea pas l'animal contre la syphilisation symptomatique ordinaire. Ce fut donc bien, dans nos essais *in vitro*, la pénicilline qui vulnérifiait, jusqu'à le rendre inoffensif, l'agent étiologique.

La possibilité n'est pas exclue de recourir à la pénicillinisation du sang donneur pour prévenir, en certains cas, la syphilisation transfusionnelle. La dose requise est pourtant si grande que la méthode ne nous paraît pas destinée à l'usage courant. Il reste d'ailleurs à savoir si l'action tréponémicide, que nous avons observée, est due à la pénicilline elle-même ou bien à quelque impureté contenue dans les préparations commerciales utilisées. Des tentatives complémentaires sont en cours au moyen de pénicilline chimiquement pure.

A. BESSEMANS, P. DEROM et R. DEROM

Institut d'hygiène et de bactériologie de l'Université de l'Etat à Gand (Belgique), le 13 juin 1947.

Summary

The Ghent strain of *Treponema pallidum* loses entirely its virulence for the rabbit when mixed *in vitro* during 1 hour at 18° C or 3 hours at 37° C with a solution of "penicillin sodium Chas. Pfizer & Co., Inc." or with "penicillin C.S.C. sodium salt of the Commercial Solvent Corporation" at the rate of 10,000 Oxford units per cm³. The injection of 20,000 units in each testicle of the animal, when made immediately before or at the same time as the inoculation of the virus, does not protect against the infection. It is therefore possible to prevent syphilis by penicillizing the blood for transfusion. But too great amounts of the drug are required in practice. It must also be proved that chemically pure penicillin has the same treponemicid action.

Einfluß von Penicillin auf die Wurzelkultur
(*Zea mays*)

Nachweis von β-Indolylessigsäure (Heteroauxin)
im Handelspenicillin

Bei der Untersuchung der Wirkung von Penicillin auf das Wachstum von Wurzeln von *Zea mays* in steriler Organkultur ergab sich ein stark hemmender Einfluß von Handelspenicillin (Na-Penicillin Squibb) auf das Längenwachstum (Tabelle). Nach 6–8 Tagen zeigen sich zudem charakteristische Veränderungen im Dermatogen: stellenweise starke Aufblähungen und oft sogar ein Platzen der Wandungen.

Zahl Kulturen	OE/cm ³	Gesamtzuwachs in mm nach Tagen			
		3	8	17	40
14	—	9,1	17,5	28,4	41,5
14	5	2,4	6,1	12,6	21,0
17	50	1,7	5,3	10,7	18,2

¹ A. BESSEMANS et R. DEROM, Bruxelles-Médical n° 8, 343 et n° 18, 821 (1945).
² Les concentrations pénicilliniques de 1000 unités par cm³ retardèrent 3 fois sur 4 l'apparition des lésions.
³ c = négativité contrôlée par transfert ganglionnaire.
⁴ A. BESSEMANS et R. DEROM, Ann. Dermatol. et Syphiligr. n° 11bis, 744 (1946); C. r. Réunion du 28 juillet 1946 à l'Hôp. mil. Namur, p. 29; Monde et Médecine n° 10, 43 (1946).

Unter dem Einfluß von Penicillin Squibb beobachtete DE ROPP¹ bei Stengelkulturen von Sonnenblumen eine Adventivwurzelbildung und vermutet Heteroauxin als wahrscheinliche Ursache. GEIGER² zeigte, daß sehr kleine Konzentrationen (10^{-8} Mol) von Heteroauxin das Längenwachstum von Maiswurzeln stark hemmen, was wir bestätigen konnten. Es lag deshalb die Vermutung nahe, daß Heteroauxin als Verunreinigung des Handelspenicillins die Ursache der Hemmung sein könnte.

Der hemmende Faktor erwies sich als thermostabil: autoklaviertes Penicillin ergab eine ebenso starke Hemmung wie das nicht erhitzte. Der Faktor ist aus schwach sauren wässrigen Lösungen durch Äther extrahierbar, was auch für Heteroauxin gilt.

Andererseits hat ein Zusatz von reinem Na-Penicillin G, das wir der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, verdanken, in einer Konzentration von 150 OE/cm³ keinen hemmenden Einfluß auf das Wurzelwachstum.

Als weitere Aufgabe stellte sich der chemische Nachweis der β -Indolylessigsäure durch eine spezifische Farbreaktion. Wir wählten dafür die Reaktion mit Cu-Sulfat, Glyoxylsäure + Schwefelsäure (SUTTER³), was eine rotviolette Färbung ergibt. Maßgeblich für die Farbstoffbildung ist offenbar die Anwesenheit eines Indolrestes, denn auch andere Indolderivate ergeben Färbungen. Wir erhielten blauviolette Färbung mit Tryptophan, rotviolette mit β -Indolylessigsäure und grünlichblaue Färbung mit Ergotamin. Trotz des geringen konstitutionellen Unterschiedes von Tryptophan und β -Indolylessigsäure erhält man deutlich verschiedene Farbtönen, die eine Verwechslung kaum zulassen. Wir glauben deshalb, daß die Spezifität der Farbreaktion auf β -Indolylessigsäure eine sehr hohe ist, wenn die Farbnuance als Kriterium herangezogen wird.

Ein direkter Nachweis der β -Indolylessigsäure aus wässriger Penicillinlösung kam indessen nicht in Frage, da eine eventuelle Farbreaktion durch die starke Gelbfärbung des Handelspenicillins verdeckt wird. Es war deshalb notwendig, eine weitgehende Trennung von β -Indolylessigsäure und gelben Farbstoffen vorzunehmen. Wir versuchten, die Trennung chromatographisch durch Adsorption an Aluminiumoxyd, standardisiert nach BROCKMANN, durchzuführen. Dabei führte die chromatographische Adsorption aus wässriger Lösung zu keiner sauberen Abtrennung des Hormons von den gelben Farbstoffen. Wir versuchten deshalb eine Anreicherung der Substanz durch Ätherextraktion aus angesäuerter wässriger Lösung. Der gelbe Extrakt wurde auf wenige cm³ eingengt, an Al-Oxyd chromatographiert und das Chromatogramm mit Äther entwickelt. Die Säule wurde empirisch in fünf Zonen zerlegt und jede Schicht mit wenig Wasser eluiert. Mit Glyoxylsäure ergaben die oberen drei Zonen des Chromatogramms gelbe bzw. stark braungelbe Färbung; die vierte und fünfte Zone dagegen zeigten rein rotviolette Farbe. Wenn wässrige Penicillinlösungen oder Ätherextrakte direkt untersucht werden, so zeigt sich immer eine stark gelbe oder braungelbe Färbung, was den Nachweis von β -Indolylessigsäure verunmöglicht. Durch die Chromatographie von Ätherextrakten konnte der störende braungelbe Färbung verursachende Stoff sauber vom Heteroauxin abgetrennt werden. Die erhaltene Farbnuance entspricht der mit reiner β -Indolylessigsäure erhaltenen; damit ist der spezifische chemische Nachweis von β -Indolylessigsäure weitgehend gesichert.

Die Bedeutung des Ergebnisses sehen wir hauptsächlich darin, daß Handelspenicillin neben den wirksamen Penicillinen noch weitere Wirk- und Hemmstoffe enthält. Es darf nie vergessen werden, daß Handelspenicillin ein eingengtes Kulturfiltrat eines Pilzes darstellt, das relativ wenig gereinigt ist und eine große Zahl der Stoffwechselprodukte des Pilzes, die z. T. biologische Aktivität besitzen, mehr oder weniger angereichert enthält. Es ist wohl bekannt, daß Heteroauxin durch Mikroorganismen, namentlich durch Schimmelpilze (z. B. *Rhizopus suinus*), reichlich synthetisiert, im Kulturmilieu ausgeschieden und angereichert wird.

Die Konzentration von Heteroauxin im Handelspenicillin Squibb ist eine sehr hohe; 5 OE/cm³ hemmen das Wachstum von Maiswurzeln stark. Eine 100–1000-mal kleinere Konzentration würde das Wachstum fördern, denn das Optimum der Wirkung liegt für Heteroauxin bei 10^{-11} Mol. Ferner werden Mikroorganismen auch durch Heteroauxin im Sinne einer Förderung oder Hemmung des Wachstums beeinflusst.

Bei wissenschaftlichen Versuchen mit Handelspenicillin scheint uns deshalb eine gewisse Gefahr in der Tendenz zu liegen, beobachtete biologische Einflüsse ohne weiteres der Wirkung des Penicillins zuzuschreiben. Der sichere Beweis für eine Penicillinwirkung scheint uns nur dann erbracht, wenn die Wirkung des Handelspenicillins mit der Wirkung von Reipenicillin im entsprechenden Kontrollversuch übereinstimmt.

1. Reines Na-Penicillin G (150 OE/cm³) hat keinen hemmenden Einfluß auf das Wachstum von Wurzelkulturen von *Zea mays*.

2. Handelspenicillin enthält Heteroauxin; dieses konnte chromatographisch stark angereichert und kolorimetrisch identifiziert werden.

M. BEIN, R. SIGNER und W. H. SCHOFFER

Botanisches und organisch-chemisches Institut der Universität Bern, den 22. Mai 1947.

Summary

(1) Pure Penicillin Sodium G (150 U/cm³) gives no inhibition in the growth-rate of *mays*-roots in sterile organe culture.

(2) Commercial penicillin (Penicillin Sodium Squibb, 5 U/cm³) inhibits the growth-rate of *mays*-roots in a fairly high degree, due to its content of indole acetic acid. We have been able to separate the substance from the yellow dyes of commercial penicillin by chromatographic adsorption and to identify it colorimetrically as indole acetic acid.

Sul meccanismo di azione della vaccinoterapia nella infezione tifoidea

Il siero di sangue degli ammalati di tifo acquista sotto l'azione del vaccino, una evidente proprietà batteriolitica, duratura nei casi che volgono a guarigione, labile nei casi in cui la malattia continua il suo decorso¹; provocando sul bacillo del tifo le stesse alterazioni quali si notano per azione della penicillina².

Lo studio del meccanismo di azione della penicillina ci ha portati alla conclusione che la penicillina aumenta il potenziale di ossido-riduzione nel mezzo, così da impedire gli scambi energetici dei germi³.

¹ DE ROPP, Nature 158, 555 (1946).

² GEIGER, Jb. wiss. Bot. 84, 242 (1936).

³ SUTTER, Ber. Schweiz. bot. Ges. 54, 197 (1944).

¹ F. MULÈ, La Pediatria 7-9, 395-396 (1946).

² F. MULÈ, Comun. Accad. Med. di Roma, 20 aprile 1946.

³ F. MULÈ, Annali di Igiene 6, 298-301 (1946).

L'aumento del potenziale di ossido-riduzione prodotto dalla penicillina nel mezzo, verrebbe ad inibire l'attività delle deidrogenasi batteriche o degli accettori di idrogeno delle catene enzimatiche intracellulari, provocando l'arresto della vita del germe, e conseguentemente la sua lisi.

I gruppi sulfidrilici costituiscono i più importanti sistemi ad azione ossido riduttiva delle deidrogenasi batteriche. Numerosi Autori hanno dimostrato che una larga classe di agenti antibatterici agisce per reazione con i gruppi sulfidrilici dell'enzima, e che le differenze nelle azioni antibatteriche di vari agenti sono dipendenti tra altri fattori, dalla possibilità di questi agenti di venire a contatto con i gruppi sulfidrilici essenziali¹.

Gli Autori ammettono che si può fissare all'incirca di $E_h = +110$ mV, a p_H 7, il potenziale di ossido-riduzione limite massimo che permette la crescita dei germi².

Procedendo allo studio del meccanismo di azione della vaccino-terapia nella infezione tifoidea, si è portata l'indagine sulle variazioni nel sangue degli infermi, nei diversi momenti della reazione vaccinica ed oltre, del potenziale di ossido-riduzione e del glutatone, essendo questo elemento il costituente principale dei gruppi sulfidrilici.

Per la determinazione dei valori del glutatone si è seguita la tecnica di WOODWARD e FRY basata sulla titolazione iodometrica indiretta con iodato di potassio e salda d'amido come indicatore.

La misura del potenziale è stata eseguita con il metodo elettrotecnico classico, avendo come elettrodo di confronto l'elettrodo a calomelano, curando che durante tutta l'esperienza il sangue non venisse a contatto con l'aria.

Le esperienze sono state eseguite su trenta ammalati per tutta la loro degenza nell'Istituto; in essi la malattia veniva accertata sierologicamente e batteriologicamente.

Degli ammalati trattati³, il 25% è guarito con una sola iniezione, il 35% con due o tre vaccinazioni, il rimanente con più di tre vaccinazioni. Sono stati studiati anche tre ammalati arrivati in clinica in stato gravissimo e venuti a morte prima che si fosse intervenuti con la terapia specifica.

Si è constatato che:

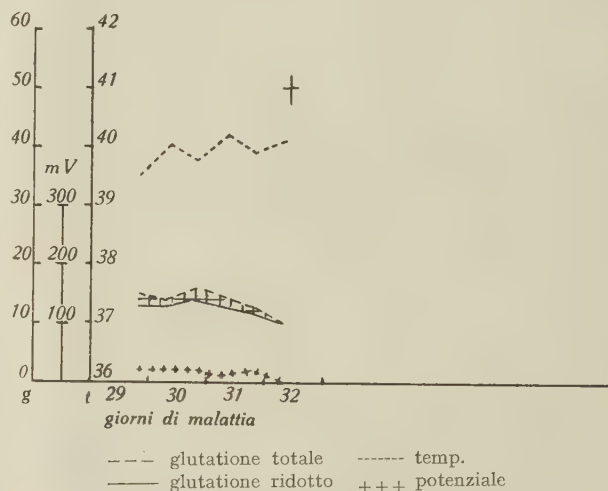
a) la glutatoneemia è generalmente diminuita nel sangue dei tifici in corso di malattia, arrivando a valori che in casi gravissimi sono del 40-50% del normale;

b) la glutatoneemia aumenta sotto l'azione della reazione vaccinica progressivamente, raggiungendo i valori massimi in rapporto con l'apiressia definitiva;

c) dei due valori del glutatone, ridotto e totale, quello che aumenta di più è il glutatone totale: ottenendosi un aumento del potenziale di ossido-riduzione del glutatone ematico;

d) la temperatura diminuisce con l'aumentare del glutatone ossidato, valore che risulta dalla differenza tra il glutatone totale ed il ridotto.

Il valore del potenziale di ossido-riduzione, misurato nel sangue *in toto* degli ammalati di tifo, si abbassa nel corso della malattia, per aumentare ove si ha l'evoluzione verso la guarigione; negli ammalati gravi tende a valori sempre più bassi sino ad arrivare a zero, valore raggiunto in casi mortali (grafico n.º 1), qualche ora prima del

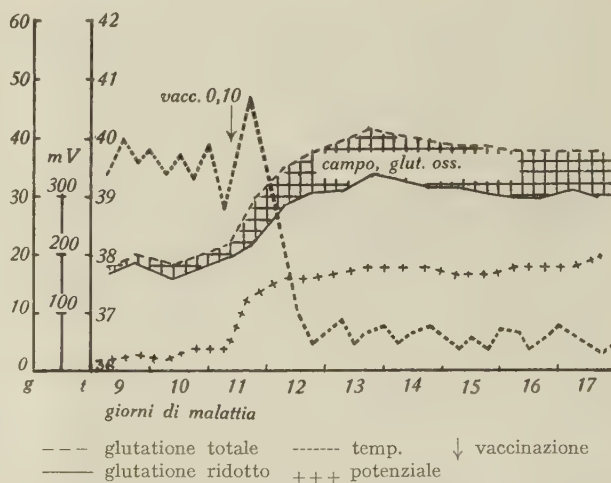


Il grafico n.º 1 appartiene ad una donna di 42 anni venuta in clinica in condizioni gravissime, in ventinovesima giornata di malattia e deceduta dopo tre giorni, prima che si fosse intervenuto con la terapia vaccinica.

I valori del glutatone sono del 40-50% del normale; i valori del potenziale sono molto bassi.

Poche ore prima del decesso, nell'ultima determinazione, il valore del glutatone ossidato è 0 e del potenziale è 0.

Nel momento in cui le proteine del sangue non hanno più capacità ossidante cessa la vita delle cellule, si ha la morte dell'organismo.



Il grafico n.º 2 rappresenta il caso di un bambino di 9 anni arrivato in clinica in nona giornata di malattia ed il cui trattamento è stato iniziato in undicesima giornata. Alla prima iniezione di $0,10$ cm³ di vaccino è seguita l'apiressia definitiva; si nota che le curve del potenziale rapidamente salgono dietro lo stimolo vaccinico, per rimanere su valori costantemente alti per diversi giorni.

I valori del potenziale che inizialmente erano sui 30-50 mV raggiungono i 150-200 mV.

I valori del glutatone aumentano per il ridotto da 18-20 a 30-35 mg, per il totale da 20-22 a 37-42 mg per 100 cm³; si nota un aumento in più dei valori del glutatone totale sul ridotto; la differenza di questi due valori ci dà il glutatone ossidato che nel grafico è rappresentato come un campo di ossido-riduzione.

¹ H. EAGLE, J. Pharmacol. 66, 436-448 (1939). - P. FILDES, Brit. J. exp. Path. 21, 67-73 (1940). - N. ATKINSON e N. F. STANLEY, Australian J. exp. Biol. med. Sci. (4) 21, 255-257 (1943). - W. B. GEIGER e J. E. CANN, J. Am. chem. Soc. 67, 112-116 (1945).

² R. W. H. GILLESPIE e J. R. PORTER, J. Bacter. 36, 605 (1938). - R. W. H. GILLESPIE e L. F. RETTGER, ib. 36, 621, 633 (1938). - B. C. J. KNIGHT e P. FILDES, Biochem. J. 24, 1496 (1930). - L. F. HEWITT, Biochem. J. 24, 1151 (1930).

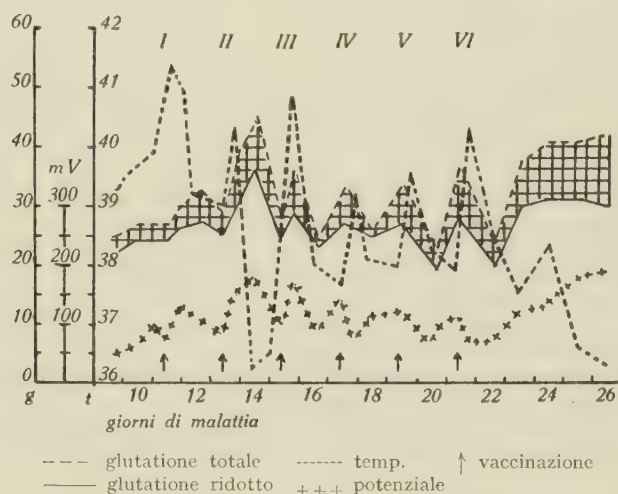
³ Per il trattamento degli ammalati si è adoperato il vaccino isozizzato secondo il metodo G. CARONIA⁴ in uso nell'Istituto.

⁴ G. CARONIA, Atti Accad. Med. Chir. di Napoli (1916); Pediatria 19, 1. (1917); Am. J. Dis. of Children 39, 1-8 (1930).

decesso. Sotto lo stimolo vaccinicò il potenziale aumenta rapidamente e progressivamente fino a raggiungere valori positivi medi di 150 mV e massimi di 200-250 mV, valori che sono incompatibili con la vita dei germi.

Nei guariti con una sola iniezione (grafico n.º 2) si osserva che dopo la reazione vaccinica la curva del glutathione ossidato, che in individui normali ha un valore costante che si aggira su un mg per 100 cm³ di sangue, tende progressivamente a salire fino a raggiungere 4-5 mg in media e 10-12 mg massimo nel secondo/terzo giorno dalla vaccinazione.

Nei trattati con più vaccinazioni (grafico n.º 3) si hanno delle forti oscillazioni nei valori del glutathione ossidato e del potenziale: essi raggiungono valori alti solo per breve tempo con le prime vaccinazioni, per cui bisogna intervenire con altre vaccinazioni per provocare una stabilizzazione del potenziale.



Il grafico n.º 3 illustra il caso in una bambina di 12 anni arrivata in clinica in nona giornata di malattia ed il cui trattamento è stato iniziato in undicesima giornata. Come si nota, l'apiressia definitiva si è avuta dopo la sesta vaccinazione.

Seguendo l'andamento delle variazioni dei valori del potenziale in rapporto allo stimolo vaccinicò, si nota come dopo le prime tre vaccinazioni i valori del potenziale rapidamente aumentano per ritornare il giorno dopo ai valori iniziali, mentre dopo la quarta, quinta, sesta vaccinazione allo stimolo vaccinicò segue un abbassarsi dei valori del potenziale che tende ad aumentare il giorno dopo. I valori del glutathione subiscono analoghe oscillazioni.

La temperatura è influenzata di poco dall'azione del vaccino dopo la terza iniezione; dopo la sesta iniezione l'ammalata sfebbrò per lisi ed il potenziale arriva a valori di 170-180 mV.

Il grafico illustra un caso appartenente a quel gruppo di ammalati in cui, come si è detto, le iniezioni che seguono la terza vaccinazione, debbono essere eseguite ogni quarto, quinto giorno.

In questi casi la risposta allo stimolo vaccinicò, in rapporto all'aumento della glutathionemia e del potenziale di ossido-riduzione, non è immediata, ma si ha solo 24-48 ore dall'iniezione con una caduta della temperatura per lisi e non per crisi come nei casi precedenti. Se nel momento in cui il glutathione ossidato tende ad aumentare, si interviene con lo stimolo vaccinicò, si osserva una brusca caduta della glutathionemia totale, e con essa la diminuzione del potenziale di ossido-riduzione con ripresa della temperatura ed il perdurare della malattia. Da ciò un dato indicativo nella terapia vaccinica del tifo: ove la malattia non cede con le prime due/tre vaccinazioni, le iniezioni seguenti debbono essere eseguite ogni quarto-quinto giorno.

In quanto alla dose abbiamo potuto osservare che: gli ammalati di media gravità reagiscono bene anche a dosi forti, mentre in ammalati molto gravi sono le più piccole dosi che provocano un aumento del potenziale; ove si interviene con dosi forti si ottiene una rapida caduta della glutathionemia con peggioramento delle condizioni generali dell'infermo.

Il dato che con l'aumento dei valori del glutathione ossidato coincide l'abbassarsi della temperatura, ci indica l'avvenuta paralisi della vita dei germi: ciò possiamo pensare che avvenga per ossidazione dei gruppi sulfidrilici SH dell'enzima batterico ad opera dei gruppi S-S del disolfuro di glutathione che è la forma ossidata del glutathione ematico.

Noi possiamo immaginare che il glutathione ossidato funzioni come accettore di idrogeno da parte del substrato xH_2 formato dai donatori di idrogeno secondo la seguente reazione:



ove con G si indica il resto della molecola semplice del glutathione ridotto.

Le modificazioni di equilibrio tra la forma ridotta e la forma ossidata del glutathione ematico con aumento di quest'ultima per variazione della dissociazione ionica, ci portano a considerare il meccanismo di azione della vaccinoterapia nell'infezione tifoidea secondo lo stesso schema esposto per l'azione della penicillina.

F. MULÈ

Istituto di clinica delle malattie infettive della Università di Roma, il 30 marzo 1947.

Summary

Having observed before that the blood serum of typhoid patients acquires under the stimulus of the vaccine an evident bacteriolytic action on the typhoid bacillus, we have studied variations brought about by the vaccine stimulus in the blood of the patients as to the redox-potential and to the glutathione in the blood.

It has been seen that under vaccine stimulus there is a rapid increase of redox-potential and of the glutathione in the blood: lasting in the cases which tend to recovery, temporary in the cases in which the illness takes its natural course.

The values of the total glutathione increase more than those of reduced glutathione, so that an increase of the values of the oxidized glutathione is found.

The variations of the values of the redox-potential and of the oxidized glutathione brought about by the vaccine reaction in the blood of the patients leads us to consider the mechanism of the action of vaccine therapy in typhoid infection, on the same principle described by us regarding the action of penicillin.

Action du succinate de soude sur la respiration

LWOFF, MONOD et BOVET¹ ont récemment signalé que, chez le Chien, les mouvements respiratoires interrompus expérimentalement par l'hyperventilation pulmonaire, reprennent après injection intraveineuse de succinate de soude. DE BOER² a observé que l'administration rapide d'une forte dose de cette substance

¹ A. LWOFF et J. MONOD, C. r. Acad. Sci. 222, 696 (1946).

² B. DE BOER, J. Pharmacol. a. exp. Ther. 88, 366 (1946).

provoque, chez le Chien anesthésié au pentobarbital, une augmentation temporaire de la ventilation pulmonaire.

Cette stimulation respiratoire par le succinate de soude n'a fait l'objet d'aucune recherche systématique. Nous nous sommes efforcés d'en établir les principales caractéristiques chez le Chien anesthésié à la chloralosane.

Chez l'animal normal (8 expériences), l'injection intraveineuse de succinate de soude (0,05 à 0,185 g/kg de poids corporel) produit chaque fois une nette stimulation respiratoire. Celle-ci survient d'autant plus précocement que la dose est plus élevée; elle est progressive, se traduit toujours par une augmentation de l'amplitude des mouvements respiratoires et parfois, par une augmentation de leur fréquence. Dans 7 cas sur 8, la durée de l'apnée obtenue par une hyperventilation pulmonaire de fréquence et de volume déterminés, a été fortement raccourcie. Pour les doses relativement faibles de succinate (en dessous de 0,1 g/kg), il n'y a cependant pas lieu de parler d'interruption de l'apnée, car ce raccourcissement n'est observé que pour une apnée déterminée de 10 à 20 minutes après l'injection de succinate.

Une caractéristique très intéressante de cette stimulation respiratoire est sa longue durée: une seule injection de succinate de soude agit en effet au moins pendant deux ou trois heures, au cours desquelles toutes les apnées d'hyperventilation sont raccourcies.

Les chimiorécepteurs sino-carotidiens et cardio-aortiques n'interviennent pas dans cette stimulation respiratoire, car elle apparaît encore chez l'animal dont les sinus carotidiens et la zone cardio-aortique sont éternés.

Aux doses administrées, le succinate ne provoque aucune modification nette de la pression artérielle. On observe fréquemment, pour les fortes doses de succinate, des contractions brusques et irrégulières au niveau de différents groupes musculaires, y compris les muscles respiratoires.

Il existe vraisemblablement une relation entre les propriétés du succinate que nous venons de décrire et l'influence de cette substance sur la narcose et l'intoxication par les barbituriques (SOSKIN et TAUBENHAUS¹; BEYER et LATVEN²; LARDY, HANSEN et PHILLIPS³; PINSCHMIDT, RAMSEY et HAAG⁴.) Toutefois, rien ne nous permet encore de préciser cette relation, pas plus que celle qui unirait les propriétés pharmacologiques du succinate avec le rôle important que cette substance paraît bien jouer dans le métabolisme tissulaire (KREBS⁵).

C. HEYMANS et J. JACOB

Institut J. F. Heymans de pharmacodynamie et de thérapie de l'Université de Gand (Belgique), le 29 avril 1947.

Summary

Intravenous injection of sodium succinate in dogs anesthetized with chloralosane produces a prolonged stimulation of respiration and decreases the duration of the apnea following pulmonary hyperventilation.

¹ S. SOSKIN et M. TAUBENHAUS, J. Pharmacol. a. exp. Ther. 78, 49 (1943).

² K. H. BEYER et A. R. LATVEN, J. Pharmacol. a. exp. Ther. 81, 203 (1944).

³ H. A. LARDY, R. G. HANSEN et P. H. PHILLIPS, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 55, 277 (1944).

⁴ N. W. PINSCHMIDT, H. RAMSEY et H. B. HAAG, J. Pharmacol. a. exp. Ther. 83, 45 (1945).

⁵ A. H. KREBS, Advances in Enzymol. 3, 235 (1943).

DISPUTANDA

ad A. LAMBRECHTS, A. NIZET und EL KHADY:

Sulfamidés et granulations de Heinz

(Exper. Vol. III, Fasc. 5, 15. V. 1947)

Verschiedene Ergebnisse bei gleichsinnigen experimentellen Untersuchungen können nur dann einander gegenübergestellt werden, wenn auch die gleichen Versuchsbedingungen eingehalten wurden. In dem vorliegenden Falle beruhen die verschiedenen Resultate sicherlich darauf, daß von LAMBRECHTS, NIZET und EL KHADY nach den Heinzschen Körperchen mit einem ganz anderen Verfahren gesucht wurde, nämlich nach der Methode von NIZET «sur fond noir», während wir die Innenkörper mit einem Vitalfarbstoff, dem Brilliantkresylblau, sichtbar machten. Wir können aus diesen unterschiedlichen Ergebnissen nur die Schlüsse ziehen, daß die Dunkelfeldmethode für die Darstellung der Innenkörperchen nicht geeignet ist, nicht aber, daß sich durch gewisse Sulfonamide *in vivo* und *in vitro* keine Innenkörperchen erzeugen lassen. Wir haben seit unseren ersten Publikationen unsere Beobachtungen bei einer großen Zahl von weiteren Fällen bestätigen können, und analoge Beobachtungen liegen auch aus anderen Kliniken vor. So hat DÖRING¹ 1940 aus der Universitäts-hautklinik Kiel (Prof. VON KENNEL) zwei Beobachtungen von Innenkörperanämien, nach Anwendung eines Sd-Präparates, mitgeteilt, und ähnliche Beobachtungen beim Menschen liegen unter anderem auch von GASSER² und WILLI³ vor. Was die Kritik an unsern Tierversuchen anbelangt, so können sich die Autoren sofort selbst davon überzeugen, daß es bei der weißen Maus mit gewissen Sulfonamiden (z. B. Rodilon, Sulfanilamid und Sulfapyridin) auf diese Weise sofort gelingt, Innenkörper zu erzeugen, sofern für ihren Nachweis die Brilliantkresylblaufärbung benützt wird. Dies gelingt aber nie mit Sulfathiazol, bei dem wir auch klinisch nie eine Innenkörperbildung nachweisen konnten. Unsere Methode der *in vitro*-Erzeugung von Innenkörper ist von WILLI⁴ beim Überprüfen eines Falles von Innenkörperanämie durch «Anastil» nachgeprüft worden, und er konnte hierbei unsere Feststellung der Innenkörperbildung *in vitro* voll bestätigen. Wir fassen heute die Innenkörper nur als Anzeichen des beginnenden Zerfalls (Hämolyse), der damit behafteten Erythrozyten auf. Sie sind keine direkten Folgen einer Methämoglobinbildung, wie wir früher annahmen, doch sind beide Vorgänge in gewissen Fällen auf ein und dieselbe Ursache zurückzuführen.

Aus den oben angeführten Untersuchungen verschiedener Autoren konnte unsere Feststellung, daß gewisse Sulfonamide durch eine Innenkörperbildung zu Anämien führen können, und daß die Innenkörperbildung mit den gleichen Stoffen auch *in vitro* und *in vivo* gelingt, nur bestätigt werden.

S. MOESCHLIN

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 10. Juni 1947.

¹ L. DÖRING, Mediz. Klinik, Nr. 14 (1940).

² C. GASSER, Schweiz. med. Wschr. 76, 567/68 (1946).

³ H. WILLI, Schweiz. med. Wschr. (Ref. Schweiz. hämat. Ges. 1946) 77, 243 (1947).

⁴ H. WILLI, Fühner-Wielands Samml. v. Verg. Fäll. 13, Liefg. 4 (1943).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Statistical Analysis in Biology

By K. MATHER. 267 pp.

(Methuen & Co., Ltd., London, 2nd Edition, 1946) (16s)

Noch ist die packende Bearbeitung der darstellenden Statistik durch A. SCHWARZ («Statistik durch Anschauung», Orell-Füßli-Verlag, 1945) in bester Erinnerung. Während dort die Auswahl der Beispiele geeignet war, die Vielfalt des statistischen Weltbildes darzutun, beschränkt sich K. MATHER auf Objekte der biologischen Wissenschaften. Als Leiter des Genetic Department der «John Innes Horticultural Institution (London)» verarbeitet er statistisch die Resultate der pflanzlichen Zuchtversuche. Bei den im Buche angeführten Beispielen steht jedoch nicht das Objekt im Vordergrund, sondern die Wahl der zweckmäßigen statistischen Methode, welche erst die rechnerische Verarbeitung des Problems gestattet. MATHER will den Biologen, Histologen, Pathologen und Toxikologen so weit einführen, daß derselbe hinterher selbständig die richtige Basis für die erfolgreiche Berechnung finden kann. Deshalb nimmt auch die vorgängige Planung der Versuche einen breiten Raum ein. Hier trifft sich MATHER mit den Absichten von R. A. FISHER (Cambridge), der das Vorwort geschrieben hat und die «Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research» (Oliver & Boyd, Edinburgh 1943) zusammen mit F. YATES verfaßte. Wie wertvoll die Mitarbeit eines Statistikers auch bei physiologischen Problemen sein kann, zeigt neuerdings die Arbeit von MATHER gemeinsam mit Klinikern des «London Hospital» über Plasmavolumenbestimmungen und deren Abhängigkeit von Höhe, Oberfläche und Gewicht der 53 Versuchspersonen (Brit. J. exp. Path. 28, 12 [1947]). Das vorausgesetzte mathematische Rüstzeug ist nicht besonders groß, dagegen verlangt die selbständige statistische Verarbeitung ein eingehendes Studium der Methoden.

CH. WUNDERLY

Le Bactériophage, sa nature et son emploi thérapeutique

Par J. STEINMANN. 79 pp.

(S. Karger, Basel-New York 1946, Suppl. Schweiz. Z. Path. und Bakt. 9, 1946) (Fr. 10.-)

In der vorliegenden Abhandlung werden Natur und Problemstellung der Bakteriophagen, die Voraussetzungen und Bedingungen ihrer therapeutischen Anwendung sowie eine Anzahl von Krankengeschichten besprochen. Im ersten Teil beleuchtet der Verfasser kritisch die verschiedenen Theorien über Natur und Beschaffenheit der Bakteriophagen, wobei er sich hinter D'HERELLE, GRATIA und DELBRÜCK stellt, die den Phagen selbstständiges Leben zusprechen und damit der Ansicht NORTHROPS und KRUEGERS widersprechen, die in den Phagen Produkte der Bakterien sehen. STEINMANN vermeidet es, mit theoretischen Spekulationen einer exakten Lösung dieser Probleme vorzukommen. Ein weiterer Abschnitt ist der Frage der therapeutischen Wirkungsweise gewidmet. Es wird die Ansicht vertreten, daß das lytische Vermögen der Pha-

gen den wesentlichen Faktor darstelle, während EATON und BAYNES-JONES sowie KRUEGER und SCRIBNER annehmen, daß sekundäre Vorgänge (wie Immunisierung, Entwicklung weniger pathogener Keime, Stimulierung der Phagozytose usw.) für den Heilerfolg verantwortlich seien. Im dritten Teile werden klinische Fälle von Staphylokokkeninfektionen angeführt, die die therapeutischen Erfolge belegen sowie Indikation und Anwendungsart demonstrieren sollen. Es sind dies: lokale Applikation bei oberflächlichen Affektionen oder solchen, die von außen erreichbar sind; intraarterielle oder intravenöse Injektion bei tiefliegenden Infektionen im Gebiete der Extremitäten, des Kopfes oder innerer Organe. Allgemeininfektionen hingegen sind der Phagentherapie weniger zugänglich.

Man kann sich bei der Lektüre des Eindrucks nicht ganz erwehren, daß die Abfassung dieser Arbeit in eine etwas ungünstige Zeit gefallen ist. Einerseits ist gegenüber früheren Zusammenfassungen über das Gebiet der Bakteriophagen nichts wesentlich Neues hinzugekommen, und es fehlt, wohl infolge der kriegsbedingten Lücken, jede neue außereuropäische Literatur. Andererseits empfindet man es als Mangel, daß an die Aufzählung der Krankengeschichten, die von 1937 bis 1943 datieren, keine Diskussion angeschlossen ist, in der die Stellung der antibakteriellen Phagentherapie angesichts der modernen Chemotherapeutika und Antibiotika genau festgelegt wird. Es besteht z. B. durchaus die Möglichkeit, daß chemotherapie-resistente Infektionen durch die Behandlung mit Bakteriophagen angegangen werden könnten. Somit läßt diese Übersicht manche Fragen unbeantwortet, die heute gelöst scheinen.

E. SUTER

Meson Theory of Nuclear Forces

By WOLFGANG PAULI

The Institute for Advanced Study, Princeton N. J. and Federal Polytechnicum Zurich, Switzerland, 69 pp. (Interscience Publishers, Inc., New York 1946) (\$2)

In den letzten 10 Jahren hat sich eine große Zahl theoretischer Physiker bemüht, eine Feldtheorie der Kernkräfte (Mesontheorie) auszuarbeiten. Der physikalische Ertrag dieser Bemühungen ist aber leider recht spärlich geblieben. Diese Studien haben uns vor allem gezeigt, daß die heutige Quantentheorie der Kraftfelder, ihrer prinzipiellen Schwächen wegen für eine theoretische Behandlung der Kernkräfte nicht ausreicht. Somit hat die Mesontheorie mehr den Charakter vorbereitender Untersuchungen, die einen Ausgangspunkt für die Weiterarbeit bilden können.

Das vorliegende Büchlein, das einer Vorlesung entspricht, die der Verfasser in Princeton gehalten hat, gibt eine Übersicht über den derzeitigen Stand der Mesontheorie. Die Darstellung ist bewußt knapp und unpräzise gehalten, um, wie der Verfasser im Vorwort bemerkt, den sehr provisorischen Stand der Problemlage zu betonen.

In den ersten drei Kapiteln wird konsequent auf die Methode der Feldquantisierung verzichtet, und es werden diejenigen Resultate abgeleitet, die schon aus der klassischen Feldtheorie gewonnen werden können. Die

physikalischen Aussagen, die sich so ergeben, sind unberührt von der spezifisch quantentheoretischen Problematik. Sie werden die Bedeutung einer ersten Näherung besitzen, deren Gültigkeitsbereich allerdings vorderhand schwer abgegrenzt werden kann.

Das vierte Kapitel enthält eine gegenüber den Originalarbeiten stark vereinfachte Darstellung der Quantentheorie der Strahlungsdämpfung sowie der Grundlagen der Untersuchungen HEISENBERGS, die eng mit dem genannten Problem zusammenhängen.

Schließlich geben die beiden letzten Kapitel eine Übersicht über die Theorie der Proton-Neutron-Streuung und über das Zweikörperproblem bei starker Kopplung.

Der Verfasser sagt im Vorwort, er beanspruche nicht, irgend etwas wesentlich Neues zu bieten. Trotzdem ist manche Einzelheit auch für den Kenner der Fragen neu. Auch vermittelt die Darstellung trotz sehr kritischer Einstellung des Verfassers einen ausgesprochen positiven physikalischen Eindruck; das ist bei dem in so vieler Hinsicht unbefriedigenden Charakter der Mesontheorie eine besondere Leistung. Somit ist dieses Büchlein sehr geeignet, denen, die sich dafür interessieren, einen Zugang zu den neuesten Arbeiten auf diesem Gebiete zu vermitteln, einem Gebiete der Physik, das wohl grundlegende Probleme in sich begreift.

M. FIERZ

Structural Inorganic Chemistry

By A. F. WELLS

590 pp., 175 Figs. (Oxford, at the Clarendon Press 1945) (25s)

Die Strukturchemie, wie sie sich von den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts an entwickelte, ging von der Vorstellung aus, daß sich die Atome der verschiedenen Elemente bei Verbindungsbildung zu abgeschlossenen Molekeln vereinigen. Im Unterschied zu einer Großzahl organischer Verbindungen ließen sich die meisten anorganischen von jeher nicht in dieses Struktursystem einordnen. Der Grund ist der, daß sie häufig nur im festen Zustand existieren und – wie die röntgenographische Kristallstrukturanalyse zeigt – nicht aus Molekeln aufgebaut sind. Die röntgenographische Strukturermittlung erfolgte zunächst hauptsächlich durch Kristallographen und Physiker; diese vermittelten die Ergebnisse ihrer Untersuchungen in einer Darstellung und Sprache, die dem Chemiker fremd waren. So entstand eine neue Spezialdisziplin, die Kristallchemie; dies führte zu einer weiteren wissenschaftlichen Zersplitterung. Auf die Gefahr, welche dadurch der Einheit der Chemie droht, ist vor allem auch von schweizerischen Forschern, wie P. NIGGLI und E. BRANDENBERGER, hingewiesen worden. Der erstere hat in seinem Werk «Grundlagen der Stereochemie»¹ die gemeinsamen Wurzeln der Struktur molekularer und kristalliner Verbindungen auf Grund geometrischer Überlegungen in klarster Weise herausgearbeitet.

Im Prinzip erstrebt das Buch von WELLS dasselbe, allerdings nur für das Teilgebiet der anorganischen Chemie. Der Ausgangspunkt ist aber ein ganz anderer, nämlich das Stofflich-Materielle. In einem ersten allgemeinen Teil wird zunächst der Bau der Atome diskutiert, dann die Bindungsverhältnisse und die räumliche Anordnung der Atome, wobei sich der Autor im wesent-

lichen an die Anschauungen PAULINGS hält. Auf ein Kapitel über die verschiedenen Aggregatzustände, einschließlich des glasartigen, folgt ein besonderes über den kristallisierten Zustand. Ein Abschnitt über die experimentellen Methoden der Strukturchemie beschließt den allgemeinen Teil. Die Art der Darstellung und Gliederung des Stoffes bringt es mit sich, daß die rein geometrische Strukturlehre etwas zu kurz kommt; das oben erwähnte Buch von NIGGLI wird hier eine wertvolle Ergänzung sein.

Im speziellen Teil werden zuerst die Wasserstoffverbindungen besprochen; dabei finden Strukturen mit Wasserstoffbindung besondere Beachtung. Es folgt dann die Behandlung der Halogen-, Sauerstoff-, Schwefel-, Stickstoff-, Phosphor-, Kohlenstoff-, Silizium- und Borverbindungen. Dabei werden die Gründe für das Auftreten molekularer Verbindungen einerseits und kristalliner andererseits deutlich herausgearbeitet und die Beziehungen zwischen beiden erörtert. An die Besprechung der einfachen Verbindungen schließt sich diejenige der komplizierten an. Die letzten Kapitel sind den Metallen und Legierungen gewidmet.

Der Autor hat – wie er angibt – seine Kenntnisse z. T. aus der Originalliteratur, hauptsächlich aber aus Monographien geschöpft. Am Schluß des Buches findet sich eine Liste solcher Monographien und Einzelarbeiten. Es ist verständlich, daß vor allem die angelsächsische Literatur berücksichtigt ist, und tatsächlich haben auch die Angelsachsen besonders viel zur Entwicklung des Gebietes beigetragen. Begreiflicherweise ist aber das Literaturverzeichnis unvollständig und darf deshalb nicht herangezogen werden, um die Verdienste einzelner Forscher für die Entwicklung der anorganischen Strukturchemie zu beurteilen.

Unseres Wissens bringt das Buch von WELLS die erste zusammenfassende Darstellung des im Titel erwähnten Gebietes. Das nach chemischen Gesichtspunkten systematisch geordnete Tatsachenmaterial läßt auch die noch bestehenden Lücken deutlich erkennen und damit wirkt das Buch anregend auf die weitere Forschung. Es sollte als vorzügliches Standardwerk in keiner modernen chemischen Bibliothek fehlen.

W. FEITKNECHT

Ouvrages reçus - Eingegangene Bücher
Libri pervenutici - Books received

- Lorenz Oken in Basel, von P. von Hasselt (Verlag Paul Haupt, Bern 1946) (Fr. 3.20).
- Die historischen Grundlagen der intravenösen Injektion, von H. Bueß (Verlag H. R. Sauerländer & Co., Aarau 1946) (Fr. 10.-).
- Elementary Wave Mechanics, by W. HEITLER (Oxford University Press 1946) (7s 6d).
- X-Rays, by B. L. Worsnop and F. C. Chalklin (Methuen & Co., Ltd., London 1946) (5s).
- Practical Chemistry for Medical Students, by William Klyne M.A., B. Sc. (E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh 1946) (20s).
- Scientific Instruments, edited by H. J. Cooper (Hutchinson's Scientific and Technical Publications, London, New York, Melbourne, Sydney 1946) (25s).
- The Meaning of Relativity, by A. Einstein (Methuen & Co. Ltd., London 1946) (6s).
- Studies on the Nature of the Bromate Effect, by H. Jørgensen (Einar Munksgaard, Kopenhagen 1946) (dän. Kr. 40.-).
- Principles of Agricultural Botany, by Alexander Nelson (Thomas Nelson & Son Ltd., London 1946) (35s).
- Essays in Rheology, based on the 1944 Oxford Conference of the British Rheologist's Club (Sir Isaac Pitman & Sons Ltd., London 1947) (12s 6d).

¹ P. NIGGLI, Grundlagen der Stereochemie. Verlag Birkhäuser, Basel 1945.

- Calculating Machines, by D. R. Hartree (Cambridge University Press 1947) (2s).
- Atomic Energy in Cosmic and Human Life, by G. Gamow (Cambridge University Press 1947) (7s 6d).
- Experimental Embryology, by M. W. Woerdeman and Chr. P. Raven (Monographs on the Progress of Research in Holland, Elsevier Publishing Co., Inc., Amsterdam 1947) (fl. 6.50).
- Contribution to the Knowledge of the Influences of Gonadotropic and Sex Hormones on the Gonads of Rats, by J. H. Gaarenstroom and S. E. de Jongh (Monographs on the Progress of Research in Holland, Elsevier Publishing Co., Inc., Amsterdam 1947) (fl. 8.-).
- Die Biologie des Magenkathepsins, von S. Buchs (Karger, Basel 1947) (Fr. 12.-).
- Advances in Carbohydrate Chemistry, edited by M. W. Pigman and M. L. Wolfrom (Academic Press Inc., New York 1947) (\$ 6.60).
- Biochemistry of Cancer, by J. P. Greenstein (Academic Press Inc., New York 1947) (\$ 7.80).
- Characterisation of Organic Compounds, by F. Wild (Cambridge University Press 1947) (18s).

Les bases de la résistance mécanique des métaux et alliages, par P. Laurent, J. Valeur et S. Bogroff (Dunod, Paris 1947) (1200 fr.)

Revues - Zeitschriften - Riviste - Journals

Paradentologie

Comité de rédaction: Ch. Beyeler, Berne; A. Held, Genève; W. Heß, Zurich; R. Jaccard, Genève; U. Vauthier, Genève.
Editée par l'Arpa Internationale.

Excerpta Medica

A complete monthly abstracting service of the world medical literature comprising 15 sections and covering the whole field of theoretical and clinical medicine.

Chief Editors: M. W. Woerdeman, A.P.H.A. de Kleyn, W.P.C. Zee-man, Amsterdam.

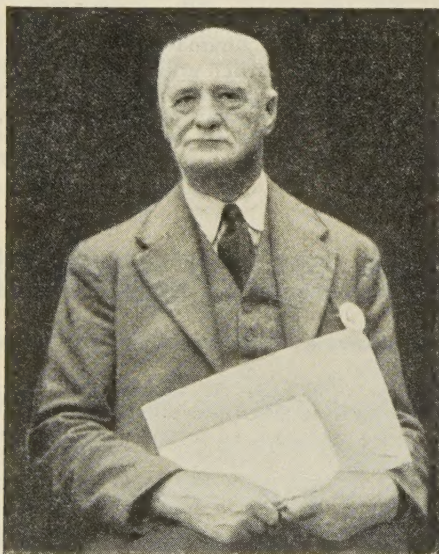
Published by Excerpta Medica, Amsterdam.

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Sir Joseph Barcroft

(26. Juli 1872 bis 21. März 1947)

Auf dem Weg nach Hause vom Physiologischen Laboratorium in Cambridge, wo er bis zur letzten Stunde gearbeitet hatte, erreichte J. BARCROFT das Ende und ersparte ihm die Lasten der Arbeitsunfähigkeit. 50 Jahre



Geschichte der Physiologie sind mit seinem Namen verwoben. Trotzdem er einen größeren Einfluß auf die Entwicklung der Physiologie als manche seiner vielgenannten Zeitgenossen hatte, stellte er sich nie in die vordere Reihe und – charakteristisch für Bewertungen unserer Zeit – auch andere haben ihn nicht genügend dorthin gestellt.

Schon der Beginn seiner Laufbahn ist typisch für sein bescheidenes Auftreten, das dem hohen geistigen Milieu von Cambridge, dessen Fellow of Kings College er war,

entsprach. Kaum wird man glauben, daß er, der so großen Einfluß insbesondere auf die medizinische Forschung hatte, kein medizinisches Diplom besaß. Er begnügte sich mit dem einfachen M. A., hinter das er dann schon in relativ frühen Jahren F. R. S. setzen konnte. Lange Zeit, als er bereits bedeutenden Einfluß auf unsere Wissenschaft hatte, war er nur Reader of Physiology. Erst nach LANGLEYS Tod, von 1925 bis 1937, wurde er Ordinarius der Physiologie in Cambridge. Seine Laufbahn beginnt in der großen Zeit dieses Laboratoriums um die Jahrhundertwende. Dort arbeiteten damals unter FORSTERS Leitung GASKELL über die Physiologie des Herzens, LANGLEY mit ANDERSON über das autonome Nervensystem, FLETCHER und HOPKINS über den Muskelstoffwechsel, jeder von ihnen grundlegend auf seinem Gebiete. BARCROFT macht seine ersten Arbeiten mit BRODIE über die Arbeit der Niere mit der damals aktuellen Fragestellung, ob die Harnbildung ein Arbeit verlangender aktiver Prozeß sei. Hierzu war die Bestimmung der Blutgase nötig. Bis dahin konnte man das nur mit LUDWIGS Technik mit großen Blutmengen durchführen. BARCROFT konstruierte einen Apparat für 0,5, später sogar für 0,1 cm³ Blut und zeigte, wie man damit serienweise *Blutgasbestimmungen* machen und eine Lokalisation des Gaswechsels durchführen kann. Seine neue Technik zog Mitarbeiter von vielen Seiten heran. In den Jahren 1911/12 war PETERS sein Famulus, heute Biochemiker in Oxford, und mit ihm eine Reihe von jungen deutschen, amerikanischen, japanischen und italienischen Physiologen, darunter der Schreiber dieser Zeilen, der jene Zeit als die schönste seines Lebens betrachtet. Seine Methode zu lehren und zu beeinflussen war denkbar einfach, unprätenziös, fast spielerisch. Er überließ, nachdem er seine Technik gezeigt hatte, uns selbst und ging bejahend auf die Gedanken der Schüler ein. Ich erinnere mich an eine köstliche Szene, als ein – später ganz Großer – Deutscher ankam und nach drei Tagen enttäuscht abreiste, weil er nicht begreifen konnte, wie «unorganisiert und faul die Arbeit in diesem Labor ging, wie man erst gegen 10 Uhr anfang und um 4 Uhr beim Tee zusammensaß und dann schon wieder nach Hause

ging)¹. Diese Arbeitsmethode war zum Teil das Geheimnis der Originalität der vielen neuen Ideen des Cambridger physiologischen Laboratoriums, das auch nicht umsonst an das physikalische von J. J. THOMPSON angrenzte und in dem auch DARWINS Geist aus dem nachbarlichen zoologischen Institut noch lebhaft war.

Der BARCROFTSche Blutgasapparat hat sich, in seiner älteren Form als «Warburg-Apparat», modifiziert, auf der ganzen Welt ausgebreitet und ist zum Standardapparat physiologischer Laboratorien geworden. Auch das spätere Modell, der Kompensationsapparat, wurde zu zahlreichen Arbeiten benützt, später allerdings auch weiter modifiziert und ist heute – trotz der vorzüglichen VAN-SLYKE-Technik – doch wieder in Gebrauch. Es ließe sich eine Reihe von Hunderten von Arbeiten zusammenstellen, die letzten Endes dieser Technik ihr Entstehen verdanken, aber nicht nur der Technik, denn BARCROFT selbst blieb immer Physiologe über der Technik. Er bearbeitete die Frage nach der Arbeitsleistung verschiedener Organe, Niere, Muskel, Leber etc., und zeigte besonders, daß das Problem der O₂-Aufnahme in die Organe eine Frage des O₂-Druckes ist und hier gelöst werden kann.

So war es kein Zufall, daß er sich schon 1910 dem Hämoglobin zuwandte. Mit seiner einfachen neuen gasanalytischen Methodik hat er dessen richtige O₂-Dissoziationskurve beschrieben. Er untersuchte sogleich auch die physiologische Bedeutung dieser S-förmigen Dissoziationskurve für die Anpassung an O₂-Mangel bzw. an große Höhen. HALDANE – der Physiologe in Oxford war – hatte eine aktive Funktion der Lunge bei der O₂-Aufnahme deshalb supponiert, weil er glaubte, daß auch noch gegen das O₂-Druckgefälle eine O₂-Aufnahme möglich sei.

Das war der Anlaß für BARCROFT, sich für Höhenklimaforschung zu interessieren. So ging er mit ZUNTZ auf den Monte Rosa, mit DOUGLAS und andern auf den Pic de Teneriffa und später in die Anden nach Cero di Pasco. Alle seine Beobachtungen und Blutgasanalysen bewiesen die Alleingültigkeit physikalischer Diffusionsgesetze für den Gaswechsel. Seine Bücher über diese Reisen sind nicht nur klassische Dokumente der Höhenklimaforschung, sondern auch voll mit biologischen und psychologischen Reiseerlebnissen. Mancher hingeworfene Gedanke wurde fruchtbar für spätere Forscher, ohne daß man oft vielleicht diese Quelle kennt.

Die Hämoglobinforschung hat er dann anderen übergeben, wie es auch sonst seine Sitte war, wenn er einen Problemkreis angeschnitten und durch entsprechende Technik auf gute Bahn geleitet hatte, ihn andern zu überlassen. Im Cambridger Laboratorium haben seine Assistenten, PETERS, ROUGHTON und HARTRIDGE, daran erfolgreich weitergearbeitet und die Rolle des Hämoglobins für den Gewebsgaswechsel weitgehend geklärt.

Während seinen Höhenklimaarbeiten entdeckt er die Blutspeicherfunktion der Milz und demonstrierte sie in schlagenden, einfach aufgebauten Versuchen am lebenden Hund. Die zirkulierende Blutmenge wird bei erhöhtem O₂-Bedarf, sogleich durch aufgestapeltes Blut, wie er zeigt, aus der Milz ergänzt. Er wird damit wieder zum Anreger einer Anzahl von Untersuchungen über die Blutspeicher des Menschen.

Es war kein Zufall, daß BARCROFT sich nach dem ersten Weltkrieg den Problemen der Physiologie des Fötus zuwandte. BARCROFT kam über das Problem der O₂-Versorgung der Organe dazu. Ebenso wie es fraglich

schien, ob die O₂-Versorgung durch die Lunge nur ein physikalisches Problem der Gasdiffusion oder eines der vitalen O₂-Sekretion ist, so ergab sich dasselbe auch für die Rolle der Plazenta bezüglich der O₂-Versorgung des Embryos. Durch die speziellen Kreislaufverhältnisse könnten sich seine Organe scheinbar nicht unter optimalen O₂-Verhältnissen befinden. Das führte zur Entdeckung einer besonderen Form des Hämoglobins sowie zu Kreislauf- und Stoffwechselbefunden am Fötus. Er brauchte dazu wieder ein neues Objekt, an welchem es möglich war, am lebenden Fötus, ohne Unterbrechung der Gravidität, zu operieren. Beim Schaf – einmal in Moskau bei einer Demonstration am internationalen Physiologenkongreß auch am Schwein – gelang ihm das. Er hatte wieder ein neues, bis dann steriles Gebiet zum erstenmal erschlossen.

we be Jews or ' Gentiles, whetner
we be bond or free: and have
been all made to drink into one
spirit.
14 For the body is not one mem-
ber, but many.
15 If the foot shall say, Because
I am not the hand, I am not
of the body: is it therefore not
of the body?
16 And if the ear shall say,
Because I am not the eye, I am
not of the body: is it therefore
not of the body?
17 If the whole body were an
eye, where were the hearing?
If the whole were hearing, where
were the smelling?
18 But now hath God set the
members every one of them in

The theory of hormones.
How feeling
which should exist in
a laboratory

sen. Diese Arbeiten wollte er in zwei Bänden zusammengefaßt herausgeben. Im vorigen Sommer, als man ihn zu einem Urlaub in die Schweiz einlud, meinte er: «Ich kann jetzt nicht; es wird mir nicht mehr viel Zeit bleiben und ich habe noch viel zu tun, denn ich will die zwei Bände der Untersuchungen am Fötus noch publizieren.» Das Erscheinen des ersten Bandes hat er noch einen Monat vor seinem Tod erlebt.

Dazwischen stehen zwei Kriege. BARCROFT stammte aus einer alten Quäkerfamilie in Irland. Menschliche Güte war bei ihm innerste Wahrheit. Als zwischen 1914/18 der Gaskrieg begann, machte er Versuche an sich selbst, um die schädliche Giftgaskonzentration zu bestimmen. Er schloß sich mit einem Hund in eine Kammer ein. Der Hund starb, während er – aufrechtstehend – gesund blieb. Als man ihn später bat, sich zu schonen, war seine Bemerkung: «Wenn ich nicht kämpfen darf, so ist alles das nur ein geringer Dienst, den ich zu leisten habe.» Im zweiten Weltkrieg hat er sofort wieder die Antigiftgasforschung übernommen. Wie er uns erzählte, hatte er daran bis zum Fall von Stalingrad gearbeitet. Als dort vom Feind kein Giftgas benutzt wurde, war man sicher, daß es prinzipiell nicht benützt werden würde und er verließ deshalb dieses jetzt nicht mehr aktuelle Gebiet, um sich einem neuen wichtigen zuzuwenden: der Bekämpfung des Hungers.

¹ BARCROFT war über die plötzliche Abreise so verdutzt, daß er – 1912! – fragte: «Do you think, he was a spy?».

Er wurde Präsident der *Nutrition Society* und hat durch rastlose organisatorische Arbeit geholfen, Mittel zu gewinnen, zu koordinieren und zahlreichen jungen Kollegen die Arbeiten über Ernährungsphysiologie ermöglicht. Noch im Sommer 1946 hat er als Präsident einer Post-war Nutrition Conference persönlich durch England und Schottland die entsprechenden Forschungsinstitute demonstriert.

In diesem Zusammenhang hat ihn mehr und mehr die *Ernährung der Haustiere* interessiert. Mit seinem von jeher bewunderten Mut, komplizierte Probleme einfach anzufassen, hat er uns einen seit einem Jahr gesunderhaltenen Stier mit riesiger Magenfistel und ein durch intravenöse Dauerinfusion von Azetat ernährtes Schaf in seinem Cambridger Laboratorium demonstriert. Das Interesse für Probleme der Tierzucht hatte ihn über seine Versuchsobjekte (Schafe, Pferde) schon seit Jahren mit der landwirtschaftlichen Forschung verbunden.

in the sight of all men.
18 If it be possible, as much as lieth in you, live peaceably with all men.
19 Dearly beloved, avenge not yourselves, but rather give place unto wrath: for it is written, * Vengeance is mine, I will repay, saith the Lord.
20 * Therefore if thine enemy hunger, feed him: if he thirst, give him drink. For in so doing thou shalt heap coals of fire on his head.

This is why you
avoid polemics

Die vollkommene Hingabe an seine Arbeit war nicht nur in seinen Kriegsarbeiten charakteristisch für ihn. Er war wohl der erste Physiologe, der sich eine Kanüle in die Arteria radialis binden bzw. an sich Arterienpunktionen machen ließ. Ein kurzes Erlebnis sei hier erwähnt: Wir trafen uns nach vielen Jahren zufällig in einem amerikanischen Institut, das eine große Kühlanlage hatte. Er bat mich, ich solle seinen Gaswechsel bestimmen, während er sich nackt in der Kühlkammer bei 0° C aufhalte; er hätte längst geplant, zu untersuchen, wie hoch die Wärmebildung durch das Kältezittern gehen könne. Er weigerte sich, den Versuch abubrechen, bis er halb bewußtlos und blau vor Kälte war, wobei das Zittern so stark wurde, daß sein O₂-Verbrauch sich um 75 % erhöhte.

Mit BARCROFT ist einer der letzten aus der großen, klassischen Epoche der englischen Physiologie von uns gegangen. Nicht nur sein Können, sondern auch seine Auffassung der Forschungsarbeit sollte nicht vergessen werden. Einem seiner Mitarbeiter hat er vor vielen Jahren zum Abschied ein Neues Testament geschenkt, mit Notizen, von denen zwei hier abgebildet seien

BARCROFTS klarer Blick, der seinen scheinbar so bescheidenen Gedankengängen entsprach, die so außerordentlich fruchtbar wurden, war der Ausdruck der tiefen Harmonie seines Geistes, verbunden mit einer inneren Güte, die in der Wissenschaft nur einen Weg der Erkenntnis, zur Beglückung des Menschen, sah.

F. VERZÄR

Verbreitung der Sonnenflecken-Relativzahlen durch Radio

Die Eidgenössische Sternwarte, Zürich, als internationale Zentralstelle für alle mit der Sonnenaktivität zusammenhängenden Untersuchungen, emittiert monatlich einmal die täglichen Sonnenflecken-Relativzahlen über den schweizerischen Kurzwellensender nach folgendem Sendeplan:

am 4. jedes Monats	MEZ.	Wellenlängen			für
1.	08 ^h 20	25.39	25.28		Australien
2.	16 05	19.60	16.87		den Orient
3.	22 50	19.59			Südamerika
4.	23 30	25.28			Nordamerika
am 5. jedes Monats					
5.	00 40	31.46	25.28	19.59	Südamerika
6.	02 40	31.46	25.28	19.59	Nordamerika
7.	04 05	31.46	25.28	19.59	Nordamerika

Abweichung von diesem Sendeplan im Jahre 1947: Die Sendung 2 erfolgt im Oktober bereits am 3. anstatt am 4.

Die Emissionen 3 und 5 erfolgen in spanischer, die übrigen in englischer Sprache.

Corrigendum

A. LUTZ: «Sur la synthèse de l'aneurine par le bacille tuberculeux». Exper. 3, 244 (1947).

Le 29 juin, l'auteur nous a communiqué les corrections suivantes: Les valeurs dans le tableau s'entendent en γ, et non en g, exception faite de la première ligne.